

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591484
 研究課題名（和文） 調節性 T 細胞の制御による新しい肝移植後肝癌再発予防法の開発
 研究課題名（英文） Prevention of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation by managing regulatory T cells
 研究代表者
 吉住 朋晴（YOSHIZUMI TOMOHARU）
 九州大学・大学病院・特別教員
 研究者番号：80363373

研究成果の概要：

研究の目的) 末梢血及び肝癌組織内における T reg の増加と CTL の不活化を証明し、CD25 強陽性の T reg を選択的にブロックすることによる、CTL 再活性化の可能性を検討する。免疫抑制剤は、臓器移植を行ううえで、必要不可欠のものであるが、T reg の特性を理解したうえで、より選択的に必要なリンパ球分画のみを一過性に排除しうる、免疫抑制剤の種類を確認する。
 研究の成果) 生体肝移植患者の術前術後における末梢血 CD4+CD25+T 細胞及び FoxP3 陽性 T 細胞の分画を検討した。非肝癌患者 18 例における生体肝移植術後の末梢血 CD4+T 細胞中の CD25+T 細胞は平均 8.02%、その内 FoxP3 陽性 T 細胞は 73.2% であった。
 生体肝移植術後肝細胞癌が再発せずに経過している 32 例と肝細胞癌が再発した 3 例において同様の検討を行った（全例カルシニューリン阻害剤投与下）。非再発例における末梢血 CD4+T 細胞中の CD25+T 細胞は 7.2%、再発例では 5.7% であった ($p=0.53$)。末梢血 CD4+CD25+陽性 T 細胞中の FoxP3 陽性 T 細胞は非再発例で 66.6%、再発例で 26.1% であった ($p=0.016$)。
 肝移植後肝細胞癌再発患者の末梢血において、FoxP3 細胞の割合が有意に低下している事がわかった。肝癌再発例では、CTL が活性化し、T reg が減少している可能性が示唆された。これまでに同様の報告はなく、肝移植後の免疫系の変化を知る上で、貴重な研究成果となると考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：移植外科、肝細胞癌。調節性 T 細胞

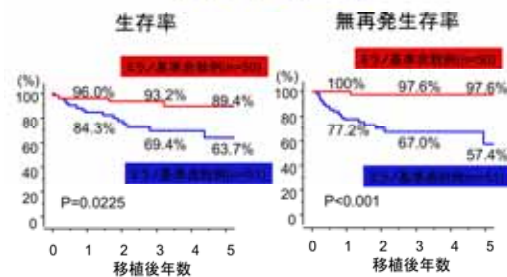
1. 研究開始当初の背景

(1) 肝癌に対する肝移植の特徴：肝機能不良肝癌あるいはコントロール不能肝癌に対して、

肝癌のみならず背景の肝硬変を一挙に治癒させ得る、究極の外科治療である肝移植の施行数は、我が国において年々増加している。し

かしながら、一旦肝癌が再発すると、その増殖は急速かつ多臓器にわたり、治療不可能となることが多い。このため、現在の肝癌再発予防は術前の肝癌の状態に主眼をおき、症例を選択しているのが現状である。肝移植が保険適応とされる条件は、最大径5cmの単発腫瘍あるいは最大径3cmで3個以内の腫瘍である。この範囲内の腫瘍に肝移植を施行すれば、3年無再発生存率は、90%以上と大変良好であるが、上記条件を満たさない肝癌に対する生体肝移植でも、我々の経験した51症例の解析では、5年無再発生存率は60%を超える。つまり腫瘍条件のみによる肝移植適応決定よりも、優れた再発予測及び再発予防法が存在する可能性がある。

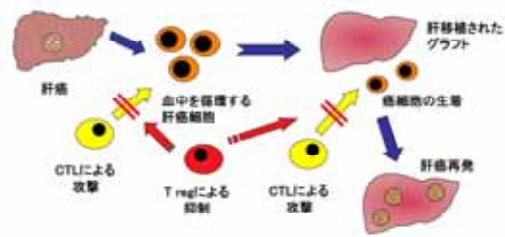
生体肝移植後患者生存率 (ミラノ基準別)



肝癌に対する肝移植医療の最大の特徴は、術後に拒絶反応発症予防のための免疫抑制剤投与が不可欠という点である。肝移植後の肝癌の再発を規定する因子の中で、腫瘍の大きさ、個数あるいは分化度といった腫瘍因子とともに、宿主因子としての腫瘍免疫の制御は最も重要な課題であると考えられる。

(2) 表面マーカーCD4+CD25+のregulatory T cell (T reg)と移植免疫あるいは腫瘍免疫との関係が注目されている。T regは生理的には自己免疫疾患の発症抑制に重要であることが知られている。生体肝移植後免疫寛容導入状態（免疫抑制剤が不要となった）患者の末梢血においては、対照群（免疫抑制剤内服群）に比べ、CD4+CD25+T cellが有意に増加していることが報告された(Am J Transpl, 2004)。また、このT regはドナー抗原特異的免疫抑制効果を持つことも、その後報告された。T cellはTregへの分化後は増殖能を持たないとされているため、T regの前駆細胞の増殖及び同細胞のT regへの分化促進が移植免疫及び免疫寛容状態確立の観点からは重要と考えられる。

肝移植後肝癌再発におけるRegulatory T cellの関与



2. 研究の目的

末梢血及び肝癌組織内における T reg の増加とCTLの不活化を証明し、CD25 強陽性の T reg を選択的にブロックすることによる、CTL 再活性化の可能性を検討する。免疫抑制剤は、臓器移植を行ううえで、必要不可欠のものであるが、T reg の特性を理解したうえで、より選択的に必要なリンパ球分画のみを一過性に排除しうる、免疫抑制剤の種類を確認する。

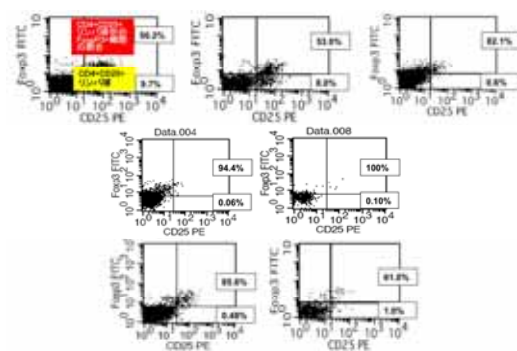
3. 研究の方法

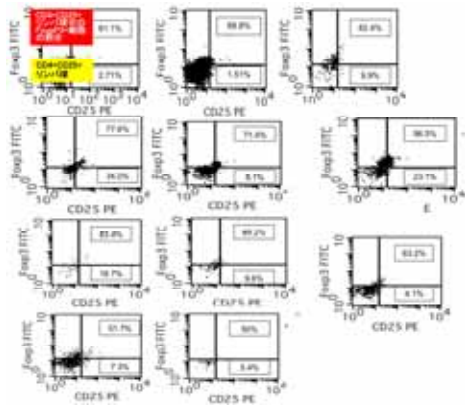
生体肝移植患者の術前術後における末梢血 CD4+CD25+T 細胞及び FoxP3 陽性 T 細胞の分画を検討した。内訳は非肝癌患者 18 例、肝癌患者 35 例であった。肝癌患者中肝移植後の再発例は 3 例であった。全例、肝移植後の免疫抑制剤として、カルシニューリン阻害剤を投与した。

4. 研究成果

(1) 非肝癌患者18例における生体肝移植術後の末梢血CD4+T細胞中のCD25+T細胞は平均8.0%、その内FoxP3陽性T細胞は73.2%であった(図1)。

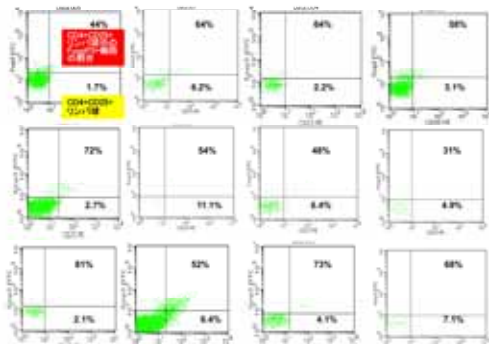
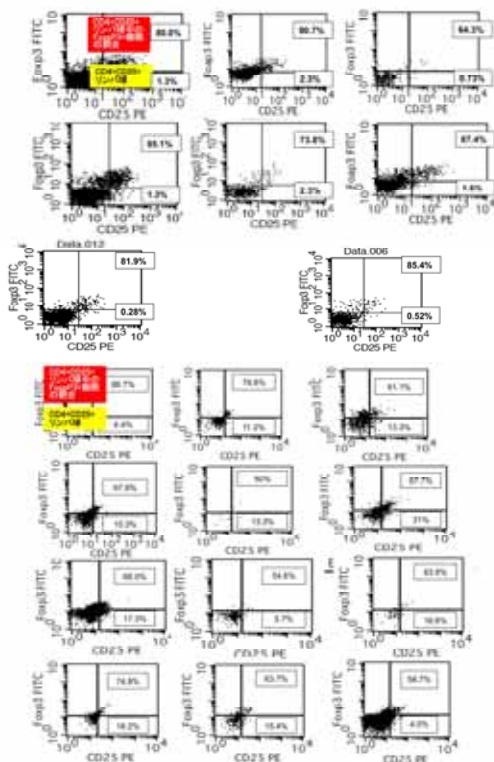
図1: 非肝癌に対する生体肝移植群(n=18)





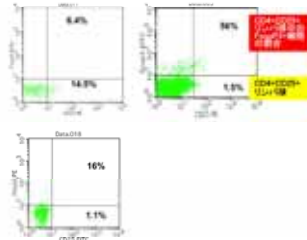
(2) 生体肝移植術後肝細胞癌が再発せずに経過している32例と肝細胞癌が再発した3例において同様の検討を行った。非再発例における末梢血CD4+T細胞中のCD25+T細胞は7.2%、末梢血CD4+CD25+陽性T細胞中のFoxP3陽性T細胞は66.6%であった(図2)。

図2: 肝癌に対する生体肝移植後無再発群 (n=32)



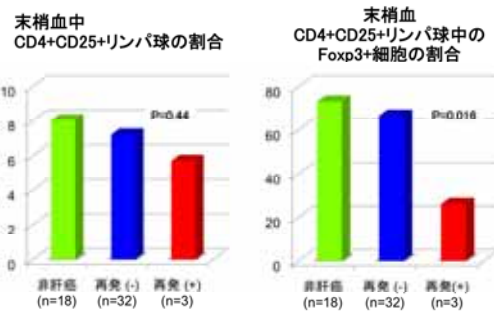
(3) 肝移植後肝癌再発例では末梢血CD4+T細胞中のCD25+T細胞は5.7%、末梢血CD4+CD25+陽性T細胞中のFoxP3陽性T細胞は26.1%であった(図3)。

図3: 肝癌に対する生体肝移植後再発群 (n=3)



統計解析すると、末梢血中CD4+T細胞中のCD25+T細胞の割合に関しては、3群間に有意差を認めなかったが(p=0.44)、末梢血CD4+CD25+陽性T細胞中のFoxP3陽性T細胞の割合は、肝移植後肝癌再発群において、有意に低値であった(図4、p=0.016)。

図4: 各群の比較



今回の結果から、肝移植後肝細胞癌再発患者の末梢血において、FoxP3細胞の割合が有意に低下している事がわかった。つまり、肝癌再発例では、CTLが活性化し、Tregが減少している可能性が示唆された。また、画像上では再発を認めないものの、腫瘍マーカーの上昇などから肝移植後の肝癌再発が疑われる症例で、末梢血中のTregも再発マーカーの一つと成りうる可能性が示唆された。これまでに同様の報告はなく、肝移植後の免疫系の変化を知る上で、貴重な研究成果となると考えられた。

今後は担癌患者の肝移植術前から術後長期間にわたり、経時的に末梢血中のTregを測定し、その変化を検討する予定である。それにより、その経時的変化と再発の有無について、興味深い知見が得られる可能性がある。生体肝移植の際に移植されるグラフトは部分肝であるため、術後の過小グラフト症候群が問題となっている。この過小グラフト症候群

の予防あるいは術後の汎血球減少改善の目的で、脾臓摘出術が行われている脾臓は抗体産生に関する最も重要な臓器とされている。レシピエントにおいて脾臓を摘出した後の、腫瘍免疫あるいは移植免疫に与える影響に関する検討は現在まで全く行われていない。

移植免疫と腫瘍免疫という、相反する事象が、担癌患者に対する免疫抑制によって、どのように変化するのか、またリンパ系の臓器である脾臓摘出術を追加することが、免疫系に及ぼす影響を今後検討していきたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

Yoshizumi T, Taketomi A, Uchiyama H et al. Graft size, donor, age, and patient status are the indicators of early graft function after living donor liver transplantation. Liver Transplantation 14巻 1007-1013, 2008 査読有

Yoshizumi T, Taketomi A, Soejima Y et al. The beneficial role of simultaneous splenectomy in living donor liver transplantation in patients with small-for-size graft. Transplant International 21巻 833-842, 2008 査読有

Yoshizumi T, Taketomi A, Kayashima H et al. Estimation of Standard Liver Volume for Japanese Adults. Transplantation Proceeding 40巻 1456-1460, 2008 査読有

Yoshizumi T Taketomi A, Soejima Y et al. Impact of donor age and recipient status on left lobe graft for living donor adult liver transplantation. Transplant International 21巻 81-8, 2008 査読有

Yoshizumi T Taketomi A, Uchiyama H et al. Successful treatment for a patient with hemophagocytic syndrome after a small-for-size graft liver transplantation. Hepatogastroenterology, 55巻 359-62, 2008 査読有.

Yoshizumi T, Shimada M, Soejima Y et al. Successful pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy for a patient with carcinoma of the papilla Vater two years after living donor liver transplantation. Hepatogastroenterology 54巻 941-3, 2007 査読有

吉住朋晴、武富紹信、副島雄二 他 生体肝移植後ステロイドフリー免疫抑制法によるC型肝炎再発の制御 今日 の移植 21巻 142-149, 2008 査読な

し.

吉住朋晴, 居村 暁, 森根裕二 他 肝細胞癌患者の術後再発予測におけるPIVKA-IIの有用性 肝胆膵 54巻 521-530, 2007 査読なし.

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉住 朋晴 (YOSHIZUMI TOMOHARU)
九州大学・大学病院・特別教員
研究者番号 : 80363373

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

()

研究者番号 :