

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18019

研究課題名（和文）心停止肝細胞移植におけるviability上昇のための新しい機械灌流法の開発

研究課題名（英文）A Novel Mechanical Perfusion Method for Increasing Viability in Cardiac Arrest Hepatocyte Transplantation

研究代表者

藤尾 淳 (Fujio, Atsushi)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50723954

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：我々は阻血再灌流障害のため臓器移植に使用できず破棄される心停止肝グラフトに対して、短時間の酸素化バッファの室温灌流を行うことで肝細胞移植に利用することが可能か検討した。まず心拍出下と心停止30分後のグラフトをそれぞれ肝細胞分離を行い、収量と機能の検査を行った。心停止肝細胞は収量が少なく、機能検査でも心停止グラフトと比較して低下することがわかった。次に心停止肝グラフトに30分間の灌流を行いその後に細胞分離を行った。収量が心停止より有意差をもって改善し、機能も改善することが明らかになった。心停止肝グラフトに室温酸素化灌流することで肝細胞移植に利用可能と思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝細胞移植は、肝細胞の機能の一部が欠損した肝臓内に、酵素により肝細胞を分離させカテーテルを使用して血管内から投与し、細胞を肝臓内に生着させ、欠損した肝機能を補完する治療法であり、肝臓移植と比較して安全・簡便・低侵襲といった利点がある。また、一つの肝臓から大量の肝細胞を分離する状態ことが可能であり、一度に多数の患者の治療を行うことが可能であるが、問題点としてはよい肝臓の提供が圧倒的に不足しているということである。今回の結果からは従来破棄されていた阻血灌流障害をへた心停止ドナーグラフトが使用することが可能であり、新たな細胞リソースを供給できるという意味で大変意義深いものとする。

研究成果の概要（英文）：We investigated the feasibility of using cardiac arrest grafts for hepatocyte transplantation by performing room temperature perfusion of oxygenation buffer for a short period of time.

First, hepatocytes were isolated from grafts under cardiac pacing and 30 minutes after cardiac arrest, respectively, and examined for yield and function. Cardiac arrest hepatocytes were found to have lower yields and lower functional tests compared to cardiac arrest grafts. The cardiac arrest liver grafts were then perfused for 30 minutes followed by cell isolation. The results showed a significant improvement in yield and function compared to cardiac arrest.

The room-temperature oxygenated perfusion of cardiac-arrested grafts appeared to be feasible for hepatocyte transplantation.

研究分野：肝細胞移植

キーワード：肝細胞移植 灌流 心停止

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

末期肝不全は予後不良であり、肝臓移植が現在唯一の根本的治療として認められている。特に代謝性肝疾患では遺伝性を有する場合が多く、理想的には血縁関係のない脳死肝臓移植が望まれる。本邦においては、2010年に改正臓器移植法が施行され脳死肝臓移植が増加し、現在年間40例ほど脳死肝臓移植が行われるようになったが、その一方、待機患者数は2018年現在300人を超えており、いまだ著しいドナー不足が続いている状況である。登録日から移植日までの待機期間は約1年4か月であり、待機期間中に死亡する患者も多く認められる。代謝性肝疾患において肝臓の代謝機能のみを補完する治療として、肝臓を全て取り換える肝臓移植は、侵襲が大きく、終生にわたる拒絶や感染管理が必要になるなどの制限がおおく、臓器不足の現状においては肝臓移植にかわる医療が求められている。

2. 研究の目的

肝細胞移植は、肝細胞の機能の一部が欠損した肝臓内に、酵素により肝細胞を分離させカテーテルを使用して血管内から投与し、細胞を肝臓内に生着させ、欠損した肝機能を補完する治療法であり、肝臓移植と比較して安全・簡便・低侵襲といった利点がある。また、一つの肝臓から大量の肝細胞を分離することが可能であり、一度に多数の患者の治療を行うことが可能という魅力的な治療である。欧米では代謝性肝疾患と急性肝不全に対して臨床肝細胞移植が100例ほど現在まで施行されており、肝機能を改善させた報告や、肝障害を進行させず肝臓移植を行うことができた報告がされている。

次世代の肝代替療法として期待される肝細胞移植であるが、移植時の肝細胞の viability が低く、また移植後24時間以内におこる原始免疫反応に伴いさらに生着率が低下するなど、同じ細胞移植で先行してきた膵島移植と同様に、数多くの克服すべき課題がある。中でも肝細胞移植の臨床応用の最大の問題点は、状態のよい肝臓の提供が圧倒的に不足しているということである。欧米や日本で行われている臨床肝細胞移植では、主に脳死臓器提供者の脂肪肝など移植不適合肝などを用いている。本邦では2013年に初めて同種肝細胞移植が行われたが、その際は小児生体肝移植のドナーの余剰肝から分離、凍結したものを使用して行われている。いずれの場合も viability は低く、本邦における急激な臓器提供の増加は望めない。そこで我々は臓器提供の増加のために、年間50例前後生じる心停止ドナーに着目した。

心停止グラフトは肝臓移植においては温阻血再灌流障害を被りやすいため、グラフト不全・合併症率が脳死肝移植や生体肝移植と比較して依然数倍高く、本邦においても心停止ドナーからの肝移植は行われていないのが現状である。我々のグループは以前より呼吸停止から死戦期をむかえ、全身の血流低下を経て心停止を誘導する心停止ドナーモデルを確立し、死戦期を経た心停止肝グラフトの温阻血再灌流障害の病態解明を行ってきた。その一連の研究成果を肝細胞移植に発展、応用することで、心停止肝グラフトからの肝細胞移植が期待できるのではないかと、という着想に至った。

3. 研究の方法

呼吸停止から心停止を誘導した F344 ラットを、肝臓摘出後にそのまま肝細胞分離をする群と、機械灌流を行った後に肝細胞分離をする群に分け、体重あたりの収量と分離肝細胞の機能を評価した。

4 . 研究成果

機能検査は細胞のエネルギー状態の把握に有用とされる

ADP/ATP検査を、また代謝機能の検査のためにアンモニア除去試験を行った。心停止肝細胞は収量が少なく、機能検査でも心停止グラフトと比較して低下するこ

とがわかった。次に心停止肝グラフトに30分間の灌流を行いその後に細胞分離を行った。収量が心停止より有意差をもって改善し、機能も改善することが明らか

になった。ADP/ATPは先行論文によると、in vivoでの移植研究と相関関係があるとされている

ため、心停止肝グラフトに室温酸素化灌流することで肝細胞移植に

利用可能と思われた。その報告を国際学会に発表し、さらに Transplantaion proceedings に投稿、アクセプトされた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takido Naruhito, Fujio Atsushi, Nishimaki Hiroyasu, Yamana Hiroki, Imura Takehiro, Kashiwadata Toshiaki, Goto Masafumi, Unno Michiaki, Kamei Takashi	4. 巻 0
2. 論文標題 Functional Assessment of Cardiac Arrest Hepatocytes and Effect of Mechanical Perfusion on Function in a Rat Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.transproceed.2023.03.051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 滝戸成人、藤尾淳、西牧宏泰、山名浩樹、猪村武弘、柏館俊明、宮城重人、亀井尚、海野倫明、後藤昌史
2. 発表標題 心停止肝細胞の機能評価と機械灌流が機能に与える影響
3. 学会等名 第58回 日本移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naruhito Takido, Atsushi Fujio, Hiroyasu Nishimaki, Hiroaki Yamana, Takehiro Imura, Toshiaki Kashiwadata, Masafumi Goto, Michiaki Unno, Takashi Kamei
2. 発表標題 Functional Assessment of Cardiac Arrest Hepatocytes and Effect of Mechanical Perfusion on Function
3. 学会等名 Transplantation Science Symposium Asian Regional Meeting（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------