

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591759

研究課題名（和文）血友病根治療法としての異所性生体部分肝移植の可能性

研究課題名（英文） Heterotopic living-donor partial liver transplantation as a therapy for cure of hemophilia

研究代表者：高 濟峯（KO SAIHO）

奈良県立医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：80305713

研究成果の概要（和文）：血友病A患者で欠損している第VIII因子の主たる産生臓器である肝臓を安全に移植して、血友病を治癒せしめるため、ラットを用いた異所性部分肝移植モデルを確立した。また、肝で産生されるとされる血液凝固因子が、肝移植後にレシピエント内でドナー肝から産生されることを確認するアッセイ系を確立するため、同じく肝で産生される血液凝固因子である ADAMTS13 のノックアウトマウスを用いた肝細胞移植実験を行い、細胞のみを移植する方法では、有意な凝固因子活性が得られないことを明らかにした。また、肝臓手術前後における ADAMTS13 の変動について検討し、大量肝切除によって ADAMTS13 活性が著明に低下することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：A model of heterotopic partial liver transplantation was established for curative treatment for hemophilia which was caused by deficiency of factor VIII produced in the liver. Experiment of hepatocyte transplantation using ADAMTS13 knockout mice revealed that untreated hepatocytes transplanted from wild type donor to the recipient did not produce detectable amount of ADAMTS13 activity. Clinical observations in patients with liver surgery showed that major hepatectomy resulted in significant decrease of plasma ADAMTS13 activity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：異所性肝移植、血友病、ADAMTS13、部分肝移植、門脈血、肝細胞移植

1. 研究開始当初の背景

血友病Aの治療は現在、第VIII因子製剤を用いた補充療法が中心である。しかし、極めて高価な第VIII因子製剤の頻回の注射が必要であること、未知のウィルスやプリオン病などの危険を完全に排除しきれないことなど

多くの問題点をかかえている。第VIII因子の主たる産生臓器は肝臓である。肝硬変を合併した血友病患者に肝移植が行われると、移植後に血友病が治癒することが報告されているが、血友病自体の治療目的で肝移植を行った例はない。これは、血友病患者に対して自

己肝摘出を伴う通常の同所性肝移植を行うことのリスクが大きすぎるのが最大の理由である。一方、異所性肝移植は、自己肝を摘出せずに、体内の別の場所に肝グラフトを移植する方法で手術侵襲も小さく、グラフト機能不全となった場合でも温存自己肝によって生命が担保される利点があるが、長期にグラフト機能を維持することが困難であり術式として確立されていない。

2. 研究の目的

異所性肝移植の問題点を主としてグラフト門脈血流における“ずり応力” (shear stress) の観点から明らかにした上で、血友病根治のために適応可能な異所性生体部分肝移植術式を新たに確立すること。

3. 研究の方法

(1) ラット部分肝移植モデルでの術式の検討

門脈再建の違いにより以下の3術式を検討。

A 群：グラフト門脈をレシピエントの門脈に端側吻合する方法。グラフト門脈をレシピエントの門脈に端側吻合する方法で、異所性肝移植のなかでは多く臨床応用されている術式であるが、グラフトへの門脈血流が温存自己肝に steel される functional portal vein competition が生じるため、早期のグラフト機能不全が多い。

B 群：グラフト門脈に、レシピエントの動脈を吻合して動脈化する方法。門脈血流を動脈血流として保つため、グラフトへの門脈血流量は安定する。臨床でも一時的肝機能補助としての成功例があり、ラットの実験でも肝再生には、グラフト門脈に流入する血液は門脈血でも動脈血でもよいとの報告もある。しかし、圧力の高い動脈がグラフト門脈に流入すると、肝類洞内に高い“ずり応力” (shear stress) を生じることになり、血流量を制御しないとグラフトの微小循環障害を生じる。

C 群：選択的上腸間膜静脈門脈再建法
小腸との複合グラフトを作成することにより、異所性部分肝に有効な門脈血流が流入するようにする方法。A群における門脈血の問題と、B群における“ずり応力”との両者を解決できる可能性がある。

(2) 肝細胞移植における血液凝固関連因子活性の上昇をとらえるアッセイ系を確立する。第 VIII 因子と同様、肝で産生される血液凝固関連因子で、“ずり応力” (shear stress) とも関係する ADAMTS13 活性に着目して実験を行った。

施設内で使用可能な ADAMTS13 ノックアウトマウスをレシピエントとして用いる。ドナーは同系の野生型とする。

(3) 肝切除患者での血液凝固因子活性の変化と術後肝障害の関連を検討する。

門脈血の肝内への流入に伴う“ずり応力” (shear stress) による肝障害を調べるため、ADAMTS13 活性の変動を肝切除手術患者の血液検体を採取して測定し、血小板数や他の生化学的肝機能指標との関連について調べる。

4. 研究成果

(1) まずラットの移植実験により、部分肝の移植モデルの作成を試みた。門脈の異所性吻合は手技的に安定しないため、C 群として肝と小腸の複合グラフトの移植を行い、移植された小腸から部分肝グラフトに門脈血が供給されるようにした。小腸とともに en-bloc に部分肝を移植して移植肝の再生因子である門脈血流を確保するラットモデルにおいて、移植後 90 日以上にわたり、機能的、形態的に部分肝グラフトが維持されることを確認した。臨床応用可能な移植手術術式であることを明らかにした。A 群、B 群では異所性肝グラフトは病理組織学的にも早期に機能不全に陥った。

(2) ADAMTS13 ノックアウトマウスをレシピエントとして、正常マウスからの肝細胞移植を行い、移植後に ADAMTS13 活性が上昇するかについて実験を行った。細胞移植の部位を腹腔内や腎被膜下、脾臓内直接注入、静脈内投与、門脈内投与を移植細胞数を変えて実験群を作成して行った。ドナー肝から分離した細胞を分画することなくすべて注入したが、いずれの実験群においても移植後 ADAMTS13 活性の有意な上昇は見られなかった。結論としては、肝における ADAMTS13 の産生は主として星細胞が担っているが、肝が臓器のマトリックスとして存在し、細胞間の interaction があることが重要であると結論した。

(3) 肝臓手術後の血栓止血因子の変動では、肝切除患者において、術後にADAMTS13活性の低下が頻繁に見られ、その程度は、肝切除量や肝虚血時間に関連していた。また、術後の高ビリルビン血症を含む肝切除後の肝障害はADAMTS13の低下と関連していた。おそらく、“ずり応力”(shear stress)に伴う微小血小板血栓形成により、ADAMTS13が消費性に低下するもとの推察された。

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6件)

1) Ko S. Value of hepatic venous pressure gradient measurement before liver resection for hepatocellular carcinoma (Comment on Br J Surg 2011; 98: 1752-1758). British Journal of Surgery; 98:1758-59, 2011 (査読有)

2) Uemura M, Fujimura Y, Ko S, Matsumoto M, Nakajima Y, et al. Determination of ADAMTS13 and Its Clinical Significance for ADAMTS13 Supplementation Therapy to Improve the Survival of Patients with Decompensated Liver Cirrhosis. Internatinal Journal of Hepatology; 759047:1-12, 2011 (査読有)

3) Shirai Y, Yoshiji H, Ko S, et al. Salvage living donor liver transplantation after percutaneous transluminal angioplasty for recurrent Budd-Chiari syndrome: a case report. Journal of Medical Case Reports; 29;5:124:1-5, 2011 (査読有)

4) Okano E, Ko S, Matsumoto M, Fujimura Y, Nakajima Y, et al. ADAMTS13 activity decreases after hepatectomy, reflecting a postoperative liver function. Hepato-Gastroenterology; 57: 316-20, 2010 (査読有)

5) Uemura M, Fujimura Y, Ko S, Matsmoto M, Nakajima Y, et al. Pivotal role of ADAMTS13 function in liver diseases. Int J Hematol; 91: 20-29, 2010 (査読有)

6) 高 濟峯、向川智英、他. 前治療による壊

死巣を有する大腸癌肝転移に対する肝切除、癌と化学療法; 37: 2569-72, 2010 (査読有)

[学会発表] (計24件)

1) 高 濟峯、他. 完全腹腔鏡下肝切除症例の検討. 第24回日本内視鏡外科学会総会. 2011. 12.9. 大阪市、大阪国際会議場

2) 西和田 敏、高 濟峯、他. 大腸癌肝転移に対する肝切除とラジオ波焼灼療法との比較. 第19回日本消化器関連学会週間(JDDW). 2011. 10.23. 福岡市、福岡国際会議場

3) 高 濟峯、他. 静脈再建を要する大型肝癌切除における肝部下大静脈の取り扱い. 第66回日本消化器外科学会総会. 2011. 7. 13. 名古屋市、名古屋国際会議場

4) 向川智英、高 濟峯、他. 同時性肝転移を伴う大腸癌に対して腹腔鏡下大腸切除と肝切除を同時に施行した2例. 第66回日本消化器外科学会総会. 2011. 7. 13. 名古屋市、名古屋国際会議場

5) 高 濟峯. ここまで治せる肝胆膵疾患の外科治療. 第46回日本消化器病学会・近畿支部市民公開講座. 2011. 6. 25. 奈良市、奈良県公会堂

6) 高 濟峯、他. 肝門部胆管癌に対する左側肝切除における肝動脈合併切除再建時の工夫. 第23回日本肝胆膵外科学会. 2011. 6. 7. 東京、京王プラザホテル

7) 高 濟峯、他. Margibally resectable colorectal liver metastases に対する血管合併肝切除. 第111回日本外科学会. 2011. 5.26. 東京、学会誌上開催

8) Ishikawa H, Ko S, et al. FDG-PET oriented surgery for recurrent colorectal cancer. 英国消化器病学会. 2011.03.15. Birmingham, UK

9) 井上 隆、高 濟峯、他. 下腸間膜静脈を用いた下大静脈再建を伴う拡大肝右葉切除術を施行した転移性肝癌の1例. 第72回日本臨床外科学会総会. 2010.11.23. 横浜市

10) 高 濟峯、石川博文、他. 巨大門脈大循環シャントによる肝性脳症に対する外科治療. 第52回日本消化器病学会大会. 2010.10.14. 横浜市

11) 高 濟峯、他. 肝細胞癌ならびに腎細胞癌腫腰栓切除症例から得られた肝部下大静脈に対する手術手技の要点. 第65回日本消化器外科学会総会. 2010. 07. 15. 下関市

- 12) 向川智英、高 濟峯、他. 巨大な同時性肝転移を伴う大腸癌の2例. 第73回大腸癌研究会. 2010.07.02. 奄美市
- 13) 高 濟峯、石川博文、他. 前治療による壊死巣を有する大腸癌肝転移に対する肝切除. 第32回日本癌局所療法研究会. 2010.06.11. 奈良市
- 14) 高 濟峯、中島祥介、他. 腎機能障害を有する高齢者肝細胞癌症例に対する腹腔鏡下肝切除の1例. 日本肝胆膵外科学会学術集会. 2010.05.27. 仙台市
- 15) 高 濟峯、中島祥介、他. 肝門部胆管癌に対する肝右葉+尾状葉切除・肝外胆管切除におけるhanging tapeをガイドとした肝切除. 第22回日本肝胆膵外科学会学術集会. 2010.05.26. 仙台市
- 16) 高 濟峯、中島祥介、他. 肝切除患者におけるSivelestat Na投与の術後呼吸機能ならびに肝機能への影響一無作為比較試験による検討一. 第110回日本外科学会定期学術集会. 2010.04.10. 名古屋市
- 17) 高 濟峯、中島祥介、他. ABO不適合腎移植レシピエントに対する腹腔鏡下脾臓摘術における注意と対策. 第22回日本内視鏡外科学会総会. 2009年12月5日. 東京
- 18) 高 濟峯、松本雅則、藤村吉博、中島祥介、他. 生体肝移植術中ならびに術後における血中ADAMTS13活性と超高分子量von Willebrand factor重合体の動態解析. 第45回日本移植学会総会. 2009年9月18日. 東京
- 19) 高 濟峯、中島祥介、他. 血小板減少を伴う肝硬変併存肝細胞癌症例に対する脾摘術の成績と適応拡大. 第64回日本消化器外科学会総会. 2009年7月16日. 大阪
- 20) 岡野永嗣、高 濟峯、松本雅則、藤村吉博、中島祥介、他. 肝切除術後の血小板メカニズムとその対策. 第64回日本消化器外科学会総会. 2009年7月16日. 大阪
- 21) 岡野永嗣、高 濟峯、中島祥介、他. C型肝硬変に対する生体部分肝移植術後の低容量INF+リバビリン療法施行3年後にICV陰性化が得られた1症例. 第27回日本肝移植研究会. 2009年7月11日. 三島
- 22) 岡野永嗣、高 濟峯、松本雅則、藤村吉

博、中島祥介、他. 肝臓外科におけるADAMTS13活性の臨床的意義. 第21回日本肝胆膵外科学会・学術集会. 2009年6月12日. 名古屋

23) 高 濟峯、中島祥介、他. 肝胆膵手術における肝動脈離断時の血行再建の要否判断と動脈再建困難時の肝動脈門脈端側吻合による門脈動脈化法. 第21回日本肝胆膵外科学会・学術集会. 2009年6月10日. 名古屋

24) 岡野永嗣、高 濟峯、中島祥介、他. 肝硬変肝細胞癌患者における脾摘術の影響. 第109回日本外科学会総会. 2009年4月4日. 福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高 濟峯 (KO SAIHO)

奈良県立医科大学・医学部・非常勤講師
研究者番号：80305713

(2) 研究分担者

中島 祥介 (NAKAJIMA YOSHIYUKI)

奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：00142381

藤村 吉博 (FUJIMURA YOCHIHIRO)

奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：80118033

柴田 優 (SHIBATA MASARU)

奈良県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：50405388

松本 雅則 (MATSUMOTO MASANORI)

奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：60316081