

MMPを用いた新しい肝細胞移植法の開発

小林英司

慶應大学医学部 臓器再生医学講座

背景

生体移植技術の進歩に伴い先天性代謝異常症に対し我が国でも生体肝移植を新生児期に移植する試みがなされてきた。



新生児期発症の先天代謝異常症に対する肝移植 (Neonatal Onset Inherited Metabolic Diseases; NOIMD)

対象: 2004年1月～2013年6月に当科に紹介となり肝移植を施行した
NOIMD10例(OTC欠損症7、CPS1欠損症1、シトルリン血症1、メチルマロ
ン酸血症1)

NOIMDの発症日齢は2～8、発症時のアンモニアピーク値は212～
2159 $\mu\text{mol/l}$ であった。移植時月齢は5～51か月。

ドナーは父親8例、母親2例で、1例はOTC欠損症保因者の母親であった。

追跡期間4.1 \pm 2.4年で全例生存中だが、10例中3例は重度の神経学的後
遺症を、4例は精神発達遅滞を認めている。

NOIMDにおいては、発症時の高アンモニア発作を迅速な血液浄化療法で
改善させ、乳児期に根治治療である肝移植を施行することが障害なき生存
への唯一の方法である。

(水田: 第49回日本移植学会総会2013)

しかし、移植前に発症する肝性脳症のため、移植後の予後に問題を残している。この問題に対し、成育医療センターは、代謝性肝疾患患児に対し、生後直後のアロ肝細胞移植を開始している。

子供への国内初の肝細胞移植手術 生後11日男児、 状態安定 成育医療研究センター

2013.8.23 13:19 [病気・医療]

国立成育医療研究センター(東京都世田谷区)は23日、肝機能に生まれつき
障害がある生後11日の男児に肝細胞を移植する治療を行ったと発表した。小
児への肝細胞移植は欧米では30例程度行われているが、国内では初めて。移
植は10日と13日の2回行われ、経過は順調という

センターは別の生体肝細胞移植のため取り
出した成人ドナーの肝臓の一部を凍結保存し
ており、この肝臓組織から肝細胞を取り出し、
男児の肝臓に注入。ドナーの余剰肝臓組織から
取り出した肝細胞を治療に使うのは世界で
初めてという。



松井陽(あきら)病院長は「将来の再生医療につながり得る治療を安全
に行えた」と成果を強調。男児は23日、透析がいらぬ状態に回復し、
センターは「成長して体重が増えた段階で、肝移植を行うかどうかなどを
判断したい」としている。

本治療は、新生児期の肝性脳症を防ぎ成長させた後に生体肝移植を行なう
Bridging 治療として意義がある。今後、細胞ソース、さらに移植細胞の長期生着
法の開発が期待される。

新しい肝細胞移植法の開発研究

成熟しても20kg前後の体重である実験専用世界最小ミニブタMMPを使って、上記問題を解決する新しい肝細胞移植法の実験研究を開始する。

実験プロトコール1：無胸腺MMPの有用性検証

新生時期に胸腺摘出を外科的に行なうことでT細胞の分化を阻止できることが、げっ歯類で知られている。ブタにおいて同様の試みがなされたが、T細胞マーカーの若干の変動を生じ、リンパ球の増殖異常が生じることが報告されている (*Nature New Biology 1972*)。T細胞分化が胎児期にはじまるとされているが、分娩前の胎児にその試みが行なわれた報告がない。先に我々は、MMPのSPF化のために帝王切開で取り出される新生時MMPを用いて胸腺摘出する技術開発に成功した。

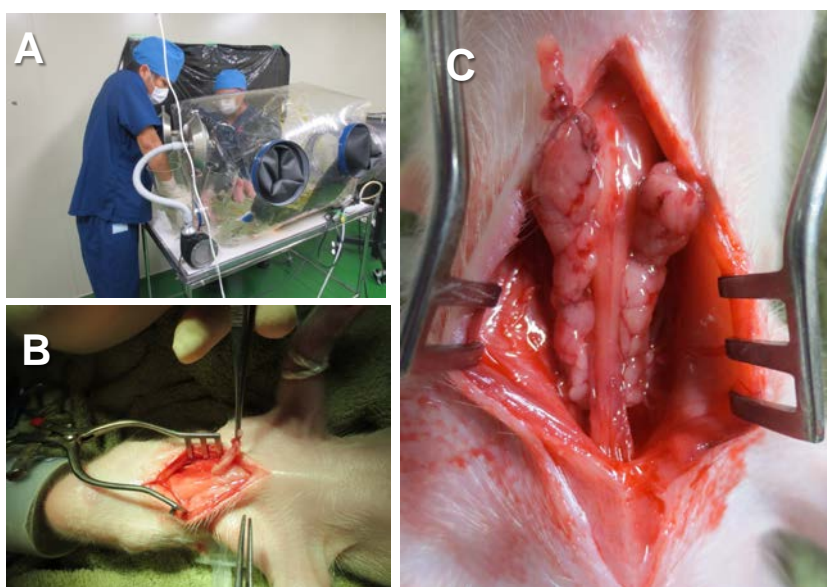


Figure A: Newborn piglets B: Sufficient general anesthesia
C: Macro-View of Cervical Thymus
Complete thymectomy with thoracic part was done by thoracotomy

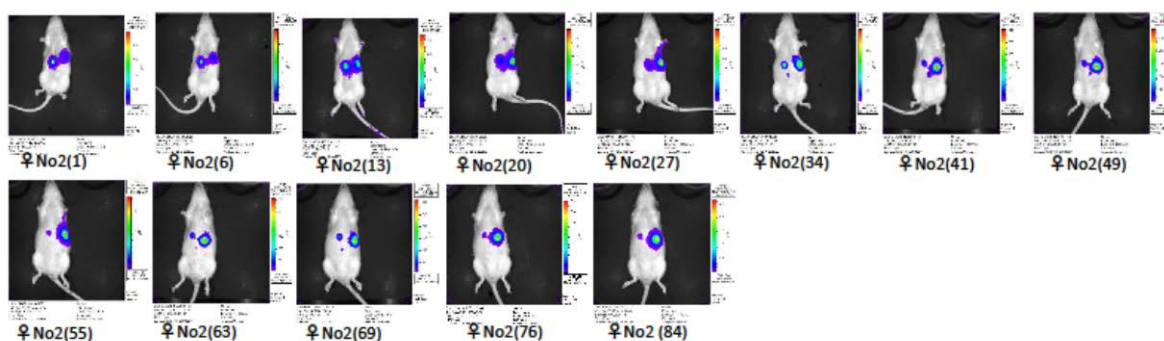
本（胸腺外科的切除）MMPを用いて、アロ肝細胞移植を行ないその免疫抑制効果を検証する。アロ肝細胞は明治長嶋らが作製したアルブミンプロモーターを使用したクサビラオレンジマーカーを持つブタの肝細胞を使用する。コントロールを同時期出生したMMPを使用して、肝左葉内選択的にマーカー付き肝細胞を移植し、1、2、3週後に十分な麻酔下移植部位のバイオプシーを行ない移植細胞の追跡を行なう。

実験プロトコール2：新しい肝組織移植法の確立

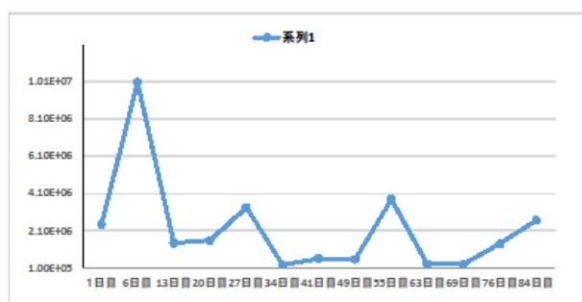
近年、ES細胞、iPS細胞から肝細胞を分化誘導する研究が進んでいる。成育医療センター梅澤らは、ヒトESから肝細胞を分化誘導し、その先天性代謝疾患

モデルマウスでの有効性を検証中である。また横浜市立大学谷口らは成育医療センターと共同でヒト iPS 細胞等から試験管内で作製した肝芽の代謝性疾患への移植治療を検討している。これらに共通する課題は、肝細胞移植が免疫反応がない状態でも永続的に移植肝細胞が維持されないことと肝細胞のスフェロイド化により肝グラフトの機能は高まるものの血管内移植ができなくなる点である。

先に著者は絵野沢と新規の肝組織（肝芽）移植法を開発した（未発表）。現在、本法では、ローデント段階ではあるが、移植肝組織は、これまでにない長期に生着機能している。



8月6日実験
Luc-TgLEW胎仔の肝芽+肝切除
レシピエント 雌 8週



本移植法の非臨床検証をMMPを用いて確認する。肝芽は、MMP胎児（30日令及び60日令）の臓器摘出の際のものとする。