

# バイマカノフ ジャスラン 論文内容の要旨

主 論 文

Efficacy of Multilayered Hepatocyte Sheet Transplantation

for Radiation-Induced Liver Damage and Partial Hepatectomy in a Rat Model

放射線性肝障害と肝切除を組み合わせたラットモデルに対する

多層化肝細胞シートの移植効果

バイマカノフ ジャスラン、山之内孝彰、堺 裕輔、小池真章子、曾山明彦、  
日高 匡章、高槻光寿、藤田文彦、金高賢悟、黒木 保、江口 晋

(Cell Transplantation・25巻3号 549—558 2016年)

(10ページ)

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 医療科学 専攻  
(主任指導教員：江口 晋 教授)

## 【緒 言】

肝移植術は末期肝硬変患者に対する確立した治療法の一つである。しかし、提供される肝臓が不足しており、代替治療が求められている。近年、細胞シート技術が動物実験や臨床に応用されているが、肝細胞シート移植による生体内での肝機能補助効果は明らかではない。放射線性肝障害 (Radiation-induced liver damage; RILD) に2/3肝部分切除 (Partial Hepatectomy; PH)を加えることにより、肝細胞の増殖は抑制され重篤な肝不全を惹起することが報告されている。本研究の目的は、致死モデルである RILD+PH ラットに多層化肝細胞シートを皮下移植し、肝機能補助効果を有するかを明らかにする事である。

## 【対象と方法】

ドナー、レシピエントともに7~8週齢の雄性 Fischer ラットを用いた。ドナーの腋窩部皮膚からコラゲナーゼを用いて線維芽細胞を分離した。肝細胞はドナー肝をコラゲナーゼ灌流法で分解し、50×gで遠心分離 (1分、3回)、さらに Percoll 密度勾配法により調整した。35-mm の温度応答性培養皿に  $2 \times 10^5$  個の線維芽細胞を播種、3日後に confluent となった培養線維芽細胞上に  $8 \times 10^5$  個の新鮮肝細胞を播種、接着させ、多層化肝細胞シートを作製した。in vitro の実験として多層化肝細胞シート群に対し、単層肝細胞単独シート群をコントロールとし、両群間でアルブミン合成能を比較した。in vivo の実験では、レシピエントラットである RILD (50Gy) + PH モデルラットの腹部皮下へ、4枚の多層化肝細胞シートを移植した (移植群)。コントロール群では RILD+PH のみ行い、両群で経時的な血清アルブミン値、採取組織の病理所見、生存率を比較した (各群 n=14)。

## 【結 果】

*In vitro*; 培養後 3 日目のアルブミン合成能に両群間で差は見られなかった。アルブミン合成能は、コントロール群では 5 日目にピークとなり以後漸減したのに対して、多層化肝細胞シート群では 11 日目まで漸増し続けた。培養 1 カ月後には、多層化肝細胞シート群では単層肝細胞単独シート群に比較して有意にアルブミン濃度が高値であった ( $95.9 \pm 8.9$  vs.  $0.5 \pm 0.3$   $\mu\text{g}/\text{sheet}/\text{day}$ ;  $p < 0.01$ )。

*In vivo*; RILD+PH 後には、移植群、コントロール群ともに血清アルブミン値は速やかに低下した。その後、コントロール群では 2 カ月間の観察期間中有意な回復が見られなかったのに対して、移植群では経時的に増加し、移植 2 ヶ月後ではコントロール群に比較して有意に高値であり ( $54.3 \pm 9.6$  vs.  $32.7 \pm 5.7$   $\text{mg}/\text{mL}$ ;  $p < 0.01$ )、正常ラットと同等の値であった ( $58.1 \pm 6.4$   $\text{mg}/\text{mL}$ )。移植 2 カ月後、組織学的には多層化肝細胞シート内にアルブミンとグリコーゲンの蓄積、毛細胆管構造が確認できた。さらに肝細胞及び線維芽細胞で Ki67 陽性であり、移植シート内および周囲に血管新生が見られた。移植群では生存率も有意に改善した (2 カ月後 57% vs. 22%, Log-rank test  $p < 0.05$ )。

## 【考 察】

細胞療法を行う上で、皮下は低侵襲かつ安全に到達できるという利点を有する。これまで、肝細胞単独シートが皮下に生着するためには、事前に移植部位に血管網の誘導が必要であると報告されてきた。本研究では、線維芽細胞と肝細胞から構成される多層化肝細胞シートは、事前の血管網誘導を行うこと無く皮下に生着し、2 カ月後でも増殖能を示した。さらに、肝不全モデルにおいて、低アルブミン血症および生存率の改善という肝機能補助効果を有することが証明された。*in vitro* の検討において、多層化肝細胞シートが単層肝細胞単独シートに比較してアルブミン合成能は優れていた。これまで報告されている線維芽細胞からのサイトカインや血管誘導因子等の産生や、肝細胞-線維芽細胞間あるいは肝細胞-細胞外基質間の相互作用が寄与していると考えられた。また、皮下へ移植後も、これら要因によると考えられる移植部位への新生血管誘導が確認され、少なくとも 2 カ月間に渡り移植肝細胞は生着・増殖し、肝細胞としての機能を維持することが可能であった。

## 【結 語】

多層化肝細胞シートは、皮下組織に事前の血管誘導を行うこと無く生着可能であり、さらに約 2 カ月間に渡り増殖能を有し、肝機能補助効果を示した。細胞シート技術の応用は、肝代謝性疾患や肝不全に対する低侵襲で効果的な治療戦略になり得ると考えられた。

(1,924 字)

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。