

【目的】 肝硬変の終末期である非代償性肝硬変の唯一の治療法は肝移植であるが本邦では脳死ドナーが不足しており健康なドナーから肝臓の一部を切離し供与する生体肝移植が主に行われている。生体ドナーへの侵襲は可能な限り小さくする必要があり、ドナーへのリスクを低減するには可能な限り摘出する肝臓を小さくすることが望ましいが、ドナーから摘出される肝臓（グラフト）が小さくなると肝臓の移植を受けるレシピエントは肝不全をきたし、生存率が低下する。肝臓の質的指標としてはドナーの年齢の他に我々は LRRN2 の遺伝子発現を測定することで術後肝不全の発症を予測できることを報告してきたが現時点で LRRN2 の評価には肝生検を必要とする。肝生検は出血等のリスクを伴う侵襲的な検査である。ドナーの安全性を担保した非侵襲的なグラフトの質的評価方法が求められるため、我々は末梢血単核球（PBMC）に着目した。PBMC を用いてヒト肝臓の生物学的老化やグラフトの質を安全に予測する研究を立案し、さらに治療として iPS 由来 Hepatocyte の移植を検討し、iPS 由来肝細胞を肝不全マウスモデルに投与し生着・機能することを確認した。事前にグラフト機能を予測することができれば、質が悪く、移植後肝不全を起こす可能性が高い症例では事前に患者由来の iPS 細胞から肝細胞を誘導し、肝不全時には投与し肝不全による死亡を予防できる。本研究は生体肝移植において予測から治療までを網羅する非常に重要な研究となりえる。

【方法】 1. PBMC を用いたグラフト不全予測遺伝子の絞り込みに向けた PBMC 収集方法の確立：生体肝移植ドナー患者より術前に採血を施行し PBMC を生成した。従来方法では採取された PBMC の生存率は約 30%と不良であり、新規 PBMC 生成方法を確立し生存率向上を測った。2. ヒト iPS 由来星細胞（i-Stes）を用いたヒト iPS 由来肝細胞（i-Heps）の増殖：ヒト iPS 細胞より i-Stes と i-Heps を分化誘導した。i-Stes とヒト星細胞細胞株 LX-2 から収集した上清を i-Heps に投与し、i-Heps への増殖の影響を検討した。3. 肝不全モデルラットを用いた i-Heps の治療応用：免疫不全ラットに対し 70%肝切除を施行し肝不全モデルラットを作製した。肝不全モデルラットに対し経門脈的に i-Heps を投与した。投与後 2・4・8 週目に血液検査を施行しラット血清中のヒトアルブミン濃度を測定した。移植後 90 日目に肝臓をラットより摘出し、ラット肝での i-Heps の生着を確認した。

【結果】 1. PBMC を用いたグラフト不全予測遺伝子の絞り込み：ドナー患者の術前血液を採取し、PBMC を採取する、従来の PBMC 採取の方法では収集細胞の生存率が約 30%ほどであったが、新規採取方法を確立し収集細胞生存率を約 80%にまで引き上げた。2. ヒト iPS 由来星細胞（i-Stes）を用いたヒト iPS 由来肝細胞（i-Heps）の増殖：i-Stes の上清は LX-2 の上清と比較して有意に i-Heps の増殖を促した。3. 肝不全モデルラットを用いた iPS 由来肝細胞の治療応用：i-Heps 投与後施行したラットの血液検査ではいずれの観察期間においてもヒトアルブミンの発現を認め、移植された i-Heps が機能していることを示唆していた。術後 90 日目に i-Heps 移植ラットの肝臓を摘出しヒトアルブミンの発現を蛍光免疫染色で染色しラット肝にヒトアルブミンが発現していることを確認した。

免疫不全ラットへのヒト iPS 由来肝細胞移植

