

Title	In Vivo Visualization and Portally Repeated Transplantation of Bone Marrow Cells in Rats with Liver Damage
Sub Title	肝障害ラットにおける骨髄細胞のIn Vivoでの可視化と経門脈複数回投与
Author	芳賀, 純子
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.20-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0020

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

In Vivo Visualization and Portally Repeated Transplantation of Bone Marrow Cells in Rats with Liver Damage

(肝障害ラットにおける骨髄細胞のIn Vivoでの可視化と経門脈複数回投与)

芳賀 純子

内容の要旨

末期肝硬変に対する治療法は、肝移植が唯一の根本的な治療法であるが、ドナー不足が深刻なのが現状である。そこで、新たな治療法として、幹細胞が移植されている。骨髄細胞は肝細胞へと胚葉を超えた分化が報告される一方、融合によるものであるとの報告、さらには、肝細胞にならないとの報告もある。また、投与プロトコルに関する報告は少ない。肝硬変患者へ対する骨髄移植の臨床応用もされているが、さらなる基礎的研究が必要と考えられる。

本研究では、骨髄細胞が肝再生に与える影響を評価するため、移植骨髄細胞の動態の可視化と、至適投与方法の検討を行った。効果的な投与方法の検討が、臨床応用時の最適な投与方法の選択につながることを期待できる。

骨髄細胞の可視化として、正常肝及び障害肝レシピエントラットへ、門脈より移植したGreen fluorescent protein (GFP) ラット及びfirefly luciferaseラット骨髄細胞をCharge-coupled-device (CCD) カメラ及びin vivo imaging system (IVIS) で評価した。至適投与方法の検討として、GFPラット骨髄細胞を肝障害モデル無アルブミンラット(NAR)へ移植し、単回投与群と複数回投与群を比較した。単回投与群は、末梢からと門脈から、複数回投与は、DMEMを門脈から投与するコントロール群と、骨髄細胞を末梢からと門脈から移植する群とした。評価項目は、生存日数、組織染色(HE染色、アザン染色、アルブミン染色)、血液データとした。経門脈投与群に対しては、同一個体の門脈内へ長期間繰り返し細胞を移植することが可能なポート付カテーテルを上腸間膜静脈より肝門部付近まで挿入した。

CCDカメラにより、骨髄細胞は移植翌日より当日、正常肝より障害肝で、肝臓に有意に多く生着している事が認められた。IVISにより、移植直後の骨髄細胞は、多くが肺へ取り込まれると判明した。移植翌日は、肝障害モデルでのみ、肝内へ骨髄細胞が生着していた。

投与方法を検討した所、単回投与群では、全例投与翌日に死亡した経末梢投与群に対し、経門脈投与群は80%が犠牲まで生存した。複数回投与群では、経門脈投与群で生存日数が長期化した。コントロール群では、明らかなBridging fibrosisを認めたが、経門脈複数回骨髄投与群では、線維化の改善とアルブミン産生細胞の集団を認めた。

本研究では、骨髄細胞の肝臓への効果を評価するため、様々なimaging systemとトランスジェニックラットを用い、また、様々な方法で骨髄細胞を移植した。顕著な生存率の向上と血液データの改善は認められなかったが、経門脈経路複数回投与が有効である可能性が示され、骨髄細胞も実際に障害肝に生着している事が認められた。効果的な方法を組み合わせる事で、移植成叢の向上につながる考えられる。

論文審査の要旨

肝移植適応でありながら移植を受けられない末期肝硬変患者に対する骨髄細胞移植が報告され、新たな治療法としての可能性が示唆されている。しかし、骨髄細胞の肝細胞への分化に関しては様々な議論がある。本研究では、骨髄細胞の生着部位の可視化と肝再生への影響を検討した結果、移植骨髄細胞の動態と線維化の改善を明らかにした。

審査ではまず、骨髄細胞の肝内および全身での生着部位が問われ、接着因子の関係が指摘された。肝内では、骨髄細胞は線維化に沿って生着するとの報告があり、線維化部位に生着した骨髄細胞によって線維化が改善されるのではないかと回答された。体表付近の細胞は検出されやすいため、肺や骨髄に多く生着しているようにみられるが、移植細胞が生着しやすい障害部位である肝臓には表示されたより多くの細胞が生着している可能性があるかと回答された。移植細胞が肺に多く取り込まれる事は、投与経路による生存率の違いに対する質問への回答にもつながった。末梢から投与した細胞が肺に生着する事が死因の一つとなる可能性があり、組織での検討で明らかになるとの考えが述べられた。また、血中アルブミン濃度の変化と、骨髄投与群と非投与群でのアルブミン染色結果の違いが問われた。骨髄投与前後で血中アルブミン濃度の変化は認められず、無アルブミンラットも僅かにアルブミンを産生するため、アルブミン染色で染まる細胞もあるが、アルブミン産生細胞の集団が認められない骨髄非投与群とは明らかに異なるかと説明された。アルブミン産生細胞の由来の問いに対しては、骨髄非投与群にはないアルブミン産生細胞の集団を認めるため、ドナー由来と考えるかと回答された。なお、骨髄細胞が分化して肝細胞になるのか、肝細胞との融合により肝細胞化するのか、に関する議論は現在も続いており、本研究でも今後検討する必要があるかと回答された。臨床応用時の投与経路の選択の問いに対して、経門脈投与群で効果が得られたため、低侵襲である末梢からの投与よりも、門脈からの投与の方が治療効果を期待できると回答された。しかし、門脈カテーテルは生体肝移植血液型不適合症例等の限られた症例にしか挿入されていない事を考慮すると、経動脈投与の方が現実的であるとの考えが述べられた。再生においては移植細胞の生着部位が重要であり、臨床応用のためには長期経過観察が必要であるため、肝臓への生着細胞数の変化と血液データ・組織染色による肝再生の検討を長期間行うべきとの指摘があった。

以上、本研究は今後検討すべき点はあるものの、経門脈複数回骨髄細胞移植によって治療効果が得られた事と、imaging systemによって可能になった経時的観察で移植細胞の生着場所を明らかにした点が評価された。今後の臨床応用に寄与し得る有意義な研究であると結論づけられた。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹
内科学 日比 紀文 外科学 小林 紘一
生理学 岡野 栄之

学力確認担当者：
審査委員長：日比 紀文

試問日：平成19年1月9日