

過小グラフト症候群に対する新規治療法の開発

大阪大学大学院医学系研究科 消化器外科

佐々木 一樹

1. 諸言

B 型肝炎、C 型肝炎などの感染症、アルコールなど様々な原因から非代償性肝硬変に至った場合、あるいは劇症肝炎から肝不全に至った場合、唯一救命する方法は肝移植である。欧米ではレシピエントの 95%が脳死ドナーまたは心肺停止ドナーから提供を受けているのに対し、本邦ではレシピエントの 15%から脳死ドナーから提供を受けているにすぎず、大部分が生体ドナーに依存している¹⁾。生体肝移植の場合、生体ドナーの安全が第一であり、摘出されるグラフトサイズには限界があるため、過小グラフト症候群を発症する場合がある。過小グラフト症候群は、グラフト肝容積の術前シミュレーション、門脈圧のコントロールにより対策はとられているが、その発症予防は依然として課題である。

近年、この課題に取り組むため、移植・再生医療の領域でさまざまな研究が盛んに行われている²⁾。その 1 つに間葉系幹細胞 (MSC) を用いたものがある。MSC は骨髄、脂肪組織などに存在し、自己複製能と多分化能を有しており、抗炎症作用、免疫調節作用、血管新生能、組織修復作用など、さまざまな作用をもつ。Preclinical の研究として、SD ラットの過小グラフト肝移植モデルにおいて、同種他家 MSC を培養後、肝グラフト移植直後に MSC を輸注したところ、移植後 7 日目のレシピエントの生存率に改善を認めたことが報告されている³⁾。しかし、実際の臨床現場で他家 MSC を培養して輸注を行う場合、煩雑な培養操作やコストを要する、また緊急の移植の際に時間的制約から MSC 輸注が困難であるなどの問題が想定される。

本研究では、ラット肝移植モデルを用いて、生体内の内因性 MSC を動員する可能性のあるペプチド X による検討を行う。

2. 方法

2.1 ラット全肝移植モデルの作成。

LEW ラット (>9 週、雄、250~280 g) を用いて、下記の要領で同種同系肝移植モデルを作成した⁴⁾。

ドナー：イソフルランで麻酔後、挿管して呼吸管理を行った。剣状突起から恥骨上縁付

近まで腹部正中切開、左右横切開を行った。肝左外側葉、左内側葉を脱転し、左下横隔静脈を結紮切離した。傍食道静脈を結紮切離した。肝下部下大静脈周囲を剥離した後、右副腎静脈を結紮切離した。右腎動脈を下大静脈後壁より剥離し、右腎静脈をテーピングした。続いて肝門処理に移った。総胆管を剥離し、十二指腸側の胆管を結紮した後、胆管前壁を切開し、胆管ステント（24G サーフロー外筒）を留置した。門脈に流入する右胃静脈、脾静脈を結紮切離した。門脈周囲より脂肪を除去した。GDA を結紮切離した。肝臓を正常位置に戻した後、陰茎静脈よりヘパリン 3,000 単位を静脈注射した。腹部大動脈・下大静脈を確保し、横隔膜を切開し、胸部大動脈を確保した。クロスクランプを行った後、腹部大動脈前壁を切開し、20G サーフロー外筒をカニューレション後、肝上部下大静脈を切開するとともに、冷却した生理食塩水 50 mL を還流させ、肝グラフトを摘出した。

バックテーブル：4 度生食内で下記の操作を行った。12G サーフロー外筒を用いてカフを作成し、肝グラフトの下大静脈に留置した。16G サーフロー外筒を用いてカフを作成し、門脈に留置した。肝上部下大静脈に 7-0 ナイロンを 2 針かけ吻合に備えた。

レシピエント：手術前にゾシン 0.3 g を筋注した。ドナー手術と同様に、イソフルランで麻酔後、挿管し、2 L/min で管理した。剣状突起から恥骨上縁付近まで腹部正中切開を行った。肝臓を脱転し、左下横隔静脈を結紮切離した。傍食道静脈を結紮切離した。肝下部下大静脈周囲を剥離した後、右副腎静脈を結紮切離した。右葉脱転した。続いて肝門部の処理に移った。総胆管、固有肝動脈を肝門部中枢側で結紮切離した。陰茎静脈より生食 2 mL を静脈注射した。肝下部下大静脈、門脈、肝上部下大静脈の順に血流遮断し、レシピエント肝臓を摘出した。無肝期はイソフルラン 0.5 L/min で麻酔維持した。次に、肝グラフトを put in した。肝上部下大静脈を 7-0 ナイロンで吻合後、門脈にカフを留置し、再灌流した（20 分以内）。次に、肝下部下大静脈にカフを留置した。生食 2 mL を静脈注射した。胆管・胆管をステントで接続した。出血がないことを確認し、4-0 ナイロンで腹壁皮膚を 2 層で閉創した。

2.2 ラット 30%部分肝移植モデルの作成。

過小グラフト症候群モデルとしてラット 30%部分肝移植モデルを作成する。30%グラフトは下記の要領で作成した⁵⁾。ドナー手術において、術中にグリソン左枝を結紮切離後、肝左外側葉を切離。次いで、肝左内側葉を下大静脈近傍で鉗子にて挟み、4-0 シルクで刺通結紮後、切離する。

上記作成したグラフトをレシピエントに移植する。

3.結果

3.1 ラット全肝移植モデルの作成。

カフ法を用いて全肝移植を行った（図 1A）。術後 4~5 日に 10%程度の体重減少を認めた

が、術後 10 日ごろより体重の増加、術後 16 日ごろに術前の体重に回復した (図 1B)。

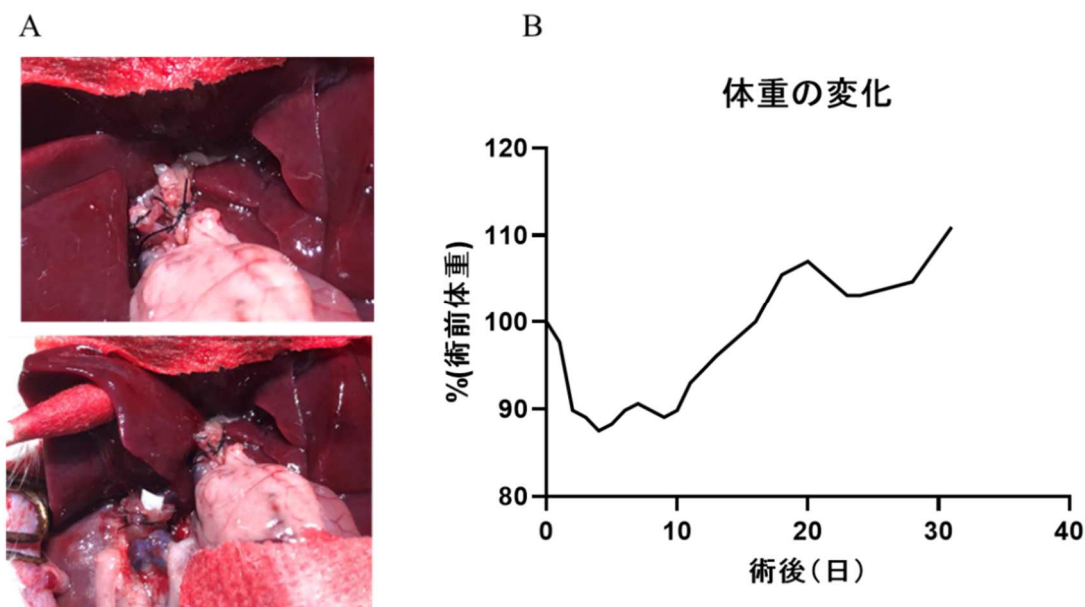


図 1 ラット全肝移植モデル (A : 肝動脈、門脈、胆管、肝下部下大静脈再建部、B : 全肝移植モデル (動脈非再建) の体重の変化)

3.2 ラット 30%部分肝移植モデルの作成。

30%部分グラフトを作成した (図 2)。現在、このグラフトを使用し、30%部分肝移植モデルの作成に向け取り組んでいる。

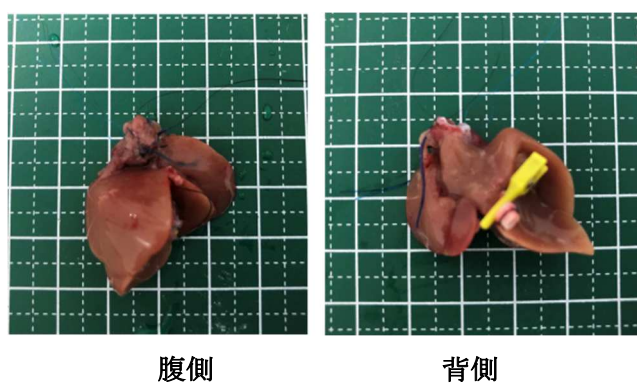


図 2 30%部分グラフト

4.考察

カフ法によるラット肝移植モデルはすでに報告⁴⁾があるが、マイクロサージェリーの技術を要し、ラット肝移植モデル確立に時間を要した。

5.結語

ラット全肝移植モデルを確立した。

次に、過小グラフトモデルとして 30%肝グラフト移植モデルを作成し、ペプチド X の投薬実験を行い、治療効果の検討を進める。

6.文献

- 1) 赤松延久. ファクトブック 2020. 東京: 一般社団法人 日本移植学会; 2021. p20-p30.
- 2) Sasaki K, Wang YC, Lu L, Hughes J, Vujevich V, Thomson AW, Ezzelarab MB. Combined GM-CSF and G-CSF administration mobilizes CD4⁺ CD25^{hi} Foxp3^{hi} Treg in leukapheresis products of rhesus monkeys. *Am J Transplant.* 2020; 20(6): 1691-1702. doi: 10.1111/ajt.15761. Epub 2020 Jan 20. PMID: 31883190; PMCID: PMC7768825.
- 3) Wang W, Du Z, Yan J, Ma D, Shi M, Zhang M, Peng C, Li H. Mesenchymal stem cells promote liver regeneration and prolong survival in small-for-size liver grafts: involvement of C-Jun N-terminal kinase, cyclin D1, and NF- κ B. *PLoS One.* 2014; 9(12): e112532. doi: 10.1371/journal.pone.0112532. PMID: 25479410; PMCID: PMC4257551.
- 4) Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation.* 1979; 28(1): 47-50. PMID: 377595.
- 5) Chen X, Yu R, Xu Z, Zhang Y, Liu C, Chen B, Jin H. Re-Arterialized Rat Partial Liver Transplantation with an in vivo Vessel-Oriented 70% Hepatectomy. *J Vis Exp.* 2018; (134): 56392. doi: 10.3791/56392. PMID: 29683437; PMCID: PMC5933416.