

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

平成24年8月23日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科  
Surgery

MAYO CLINIC JACKSONVILLE, DIVISION OF TRANSPLANT

(元・京都大学大学院医学研究科外科学(肝胆膵・移植外

職名・学年 Research Fellow

氏名 畑 俊 行

助成の種類	平成23年度 ・ 若手研究者在外研究支援 ・ 在外研究長期助成		
研究課題名	キメラ肝臓を用いた次世代の肝臓再生およびその移植に関する基礎研究		
受入機関	Mayo Clinic Jacksonville (Florida, USA), Division of Transplant Surgery		
渡航期間	平成23年 8月 1日 ~ 平成24年 7月31日 (現在渡航継続中)		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )		
会計報告	交付を受けた助成金額	2,500,000 円	
	使用した助成金額	2,500,000 円	
	返納すべき助成金額	0 円	
	助成金の使途内訳	米国ビザ交付費用(SEVIS含)	30,000 円
		渡航時航空運賃(片道)	350,000 円
		宿泊費(成田空港・出国時1泊)	10,000 円
		宿泊費(ジャクソンビル・到着時4泊)	25,000 円
		宿泊費(アパートメント賃料・12ヶ月)	1,560,000 円
日当(12ヶ月)		525,000 円	

## 成果の概要 / 畑 俊行

平成23年度・在外研究長期助成の援助を受け、平成23年8月1日より米国フロリダ州ジャクソンビル市にあるメイヨー・クリニック・ジャクソンビルに敷設された研究所に留学し、平成24年7月31日現在も研究を継続中である。研究助成を受けた過去1年間の成果の概要を報告する。

留学先のメイヨー・クリニック・ジャクソンビルは積極的に臨床活動を行うと同時に、完全に独立した基礎研究棟を2棟持ち、脳神経学系と腫瘍学系に大別されて、30近い基礎研究グループが研究を行っている。私の所属する研究室の主任研究者である Dr. Justin H. Nguyen (Professor of Surgery) は、臨床における肝移植の責任者でもあり、元来米国内でも肝移植件数の多いフロリダ州に於いて、近年手術施行数のトップを走る人物である。基礎研究目的での留学であり、実際の臨床現場に随行することは禁じられているが、私のバックグラウンドである肝移植外科医としては非常に刺激的な環境であった。また、Dr. Nguyen が以前より肝不全時の肝性脳症をテーマの一つとしていた故もあり、研究室は脳神経学系の研究棟に配置されている。肝移植研究そのものは研究室および臨床グループとの議論を要するが、脳神経学分野では米国でもトップレベルの研究施設ということもあり、研究設備は無論、研究の各論的な議論に関しては非常に恵まれた環境であった。

研究課題であるキメラ肝臓を用いた肝移植に関して、この1年間は当地でのセットアップが中心となった。その上で次の事を明らかにした。

### 1) キメラ肝臓移植後ラットの生存率に対する免疫プロトコルの影響

留学前に、ラットに移植したキメラ肝臓に対する拒絶反応をコントロールする際、T細胞制御（タクロリムス投与）によるグラフト生着の改善と、T細胞に加えて抗体産生を制御する組み合わせの免疫抑制プロトコル（タクロリムスおよびシクロホスファミド投与）による更に有意な改善を明らかにしていた。しかし、そのレシピエント（ラット）の生存に関する影響は評価し切れていなかった。今回、両方の免疫プロトコルを用いたレシピエントは、免疫抑制剤を投与しない群と比べ、有意に移植後生存期間が延長した。しかし一方で、免疫抑制群間では有意差は認められなかった。

### 2) 移植キメラ肝臓のレシピエント由来シグナルに対する反応性の評価

移植後のキメラ肝臓が長期にわたり生着・機能するためには、レシピエント由来のシグナルに対して反応し、その調節機構によるコントロールを受ける必要がある。留学前の研究では、移植後キメラ肝臓自体からのアルブミン産生を明らかにしたが、レシピエントからの影響は評価できていなかった。今回、キメラ肝臓移植2日後のレシピエント・ラットに対してレシピエント肝臓の部分肝切除を追加し、レシピエント内で肝臓再生・増殖のシグナルを外科的に誘発した。その影響を、Ki-67免疫組織染色を行い、キメラ肝臓の再生状

態で評価したところ、部分肝切除を加えた群では有意に Ki-67 陽性細胞が増加していた。このことから、キメラ肝臓はレシピエントが発した肝臓再生シグナルに応答することが明らかになった。

### 3) 移植後キメラ肝臓内血管内皮細胞のレシピエント由来内皮細胞への置換の評価

全身に GFP 遺伝子発現または LacZ 遺伝子発現が認められる遺伝子改変ラットをレシピエントに用いて、移植後のキメラ肝臓の血管内皮細胞がレシピエント由来成分に置換されるかを評価した。しかし、蛍光顕微鏡による GFP 遺伝子発現内皮細胞検索および X-gal 染色による LacZ 遺伝子発現内皮細胞の検索では、明らかなレシピエント由来血管内皮細胞は認められなかった。このことから、キメラ肝臓グラフトの更なる生着延長に必要と予想される血管内皮細胞置換は、移植前のグラフト作成時に達成される必要があると示唆された。

以上の研究課題と平行して、留学先からのテーマとしてγアミノ酪酸 (GABA) を用いた肝臓保護にも、平成24年春から取り組みだしている。GABA はニューロン抑制物質として広く知られる存在であるが、近年肝細胞にもそのレセプターが存在することが明らかになっており、GABA の投与により肝細胞活性抑制を誘導し (いわゆる「冬眠」状態)、肝移植を始めとする肝障害に対する耐性を獲得しようという仮説の下、研究モデルの確立を行っている。現時点までに、TNF $\alpha$  誘発急性肝障害マウスに対して、有意にその生存を延長することを明らかにしている。

過去1年間に於ける研究成果の概略は以上である。特に研究課題のキメラ肝臓研究に関しては、日本に於ける研究成果も含め、Annals of Surgery に「Transplantation of Engineered Chimeric Liver With Autologous Hepatocytes and Xenobiotic Scaffold」の題で投稿し、掲載が決定している (2012年8月現在オンライン閲覧可)。

また、一連の研究活動が評価され、Mayo Clinic グループ全体で募集された Center of Regenerative Medicine の Research Fellow に平成24年夏に選抜され、近々に Mayo Clinic 自体からの経済的サポートが受けられる予定である。

末筆ではあるが、この1年間、京都大学教育研究振興財団からの貴重な助成により、日本国内では得られない環境と経験を得ることが出来たことに心からの謝意を表したい。

平成24年8月23日

畑 俊行