

肝硬変症に対する再生療法の開発

寺井 崇 二

新潟大学大学院医歯学総合研究科

消化器内科学分野

Development of Regeneration Therapy for Liver Cirrhosis

Shuji TERAI

Division of Gastroenterology and Hepatology,

Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University

要 旨

非代償性肝硬変症の治療には、自己骨髄細胞投与による線維化改善とそれに引き続く肝再生の誘導が重要になる。本稿ではその開発の歴史、さらに今後新潟大学にて開発を目指す他家間葉系幹細胞投与療法の展望について報告する。

キーワード：肝硬変、細胞療法、骨髄細胞、間葉系幹細胞

緒 言

基礎研究成果を基盤に、2003年11月より肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法（Autologous Bone Marrow Cell infusion, ABMi療法）の臨床研究を世界で初めて開始し、その安全性および有効性を多施設臨床研究で確認してきた。さらに低侵襲治療法の開発を目指し、培養自己骨髄由来間葉系幹細胞の臨床研究の橋渡し研究を推進してきた。2015年1月以降、新潟大学においては、さら

に次世代の間葉系幹細胞を用いた治療法の実用化の開発を行うべく研究を推進している。

基礎研究成果：肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法の開発の理論的根拠

マウスモデルでは70%の肝部分肝切除に伴い残存した肝臓は再生するが、線維化が進んだ肝硬変では再生能は低下している。我々は、GFPTgマウスより骨髄細胞を採取し、四塩化炭素（CCl₄）

Reprint requests to: Shuji TERAI
Division of Gastroenterology and Hepatology,
Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Niigata University,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器内科学分野

寺井 崇 二

の投与による肝硬変症マウスに尾静脈より投与し効果を検証する治療評価モデル GFP/CC14 モデルを開発し、線維化の改善、それに引き続く肝細胞の増殖、肝前駆細胞の増加を確認し、肝機能および生存率の改善を確認した¹⁾。投与された骨髄細胞が肝硬変部にいき、骨髄細胞が MMP9 等のコラゲナーゼの発現、酸化ストレスの改善効果を発揮し、肝線維化を改善させることを明らかになった²⁾。肝線維化が改善されることで肝前駆細胞、肝細胞を活性化し肝再生を誘導することが明らかになった。また他のグループよりは遺伝子導入法を用いて MMP9 そのものを発現させると肝線維化が改善することを明らかになっている³⁾。このように肝硬変症治療において、線維化改善、それに引き続き肝再生の誘導が重要であり、それにより生存率も改善することが明らかになった。

橋渡し研究：世界で初めての肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法 (Autologous Bone Marrow Cell infusion (ABMi)) の実施

2003年11月より世界で初めて非代償性肝硬変症に対する自己骨髄細胞投与療法を実施し、さらに多施設臨床研究を推進しその有効性を明らかにしてきた⁴⁾⁵⁾。ABMi療法は、非代償性肝硬変症 (T.B 3mg/dl 以下、血小板5万以上、肝癌がない) に対し、全身麻酔下に腸骨より骨髄液を400ml採取し、細胞を洗浄し末梢静脈から細胞投与を行うものである。最初に山口大学で行った臨床研究にて、骨髄細胞投与後の肝生検において、PCNA陽性の肝細胞の増殖が確認でき、さらに韓国延世大学の Kim らとの共同研究で B 型肝炎ウイルス慢性肝炎により肝硬変に至った患者に ABMi 療法を施行した結果、患者の Quality of life, 肝の volume, 6か月後の Child-Pugh Score が改善したとともに、1か月後で肝前駆細胞が増え、3か月目ではさらに増殖することを確認した⁶⁾。骨髄細胞

肝硬変に対する“肝線維化改善”と“肝再生”を目指した新潟発の“再生療法”の開発

非培養骨髄細胞による ABMi 療法
(先進医療 B)

培養ヒト骨髄 MSC を用いた
低侵襲肝臓再生療法

ABMi (Autologous Bone Marrow Cells infusion;
自己骨髄細胞投与療法)

骨髄細胞投与の有効性、安全性を臨床で実証してきた

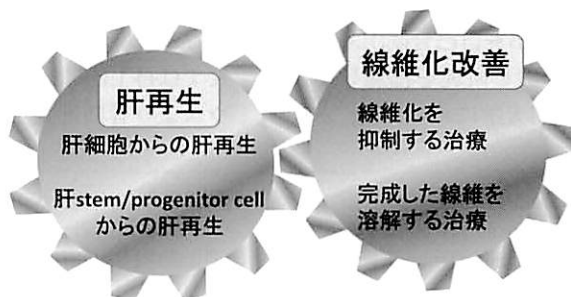


図1 今まで開発してきた肝硬変症治療

を投与することで、臨床的にも人で肝前駆細胞の活性化、肝細胞の増殖が促進されることが明らかになり、その結果肝機能が改善することが明らかになった⁷⁾。

自己骨髄細胞投与療法の多施設臨床研究

山口大学を中心として ABMi 療法が国内外ですでに 62 例の肝硬変患者に施行してきた (2016 年 6 月現在)。その内訳は山口大学では主に HCV を起因とする肝硬変症に対して 19 例、山形大学ではアルコール性肝硬変症に対して 6 例、韓国延世大学とは B 型肝炎原因の肝硬変に対して 20 例、国立国際医療研究センター ACC センターとは HIV + HCV を起因とする肝硬変症に対して 5 例、さらに生活習慣病 (肥満症) に関連する肝硬変症に対しては 10 例施行し、ABMi 療法の安全性と有効性を明らかにしてきた。平成 25 年 6 月 1 日からは【C 型肝炎ウイルスに起因する肝硬変患者に対する自己骨髄細胞投与療法】が先進医療 B に指定され、山口大学、山形大学、国立国際医療

研究センター、先端医療振興財団にて他施設無作為比較試験を実施しており現時点で 2 例に施行している (1 例投与例, 1 例非投与例)。一方で ABMi 療法は 400ml の骨髄を採取するため全身麻酔が必要で、総ビリルビン値が 3mg/dl 以上の症例には実施できない。さらに ABMi 療法を進歩させ、低侵襲の修復再生療法を開発すべく、再生医療実現化ハイウエイのプロジェクトとして局所麻酔で腸骨から 30ml の骨髄細胞を外来で採取培養し、間葉系細胞に増殖させ投与する基礎研究を推進し、2014 年 7 月に厚生労働省に臨床研究の承認を得たところである。非培養の骨髄投与から始まり現在 3 例の患者に対して自己骨髄由来培養間葉系細胞の投与の臨床研究が行われた。これにより今まで非培養 ABMi 療法で実施できなかった T.Bil が 3.0mg/dL 以上 5.0 未満の非代償性肝硬変症患者にも適応拡大になった。

以上のように肝硬変症に対する再生治療の開発を行ってきたが、その重要な知見は、肝硬変を再生するには肝線維化の改善と肝再生が一体になった治療法の開発が必要である (図 1)。

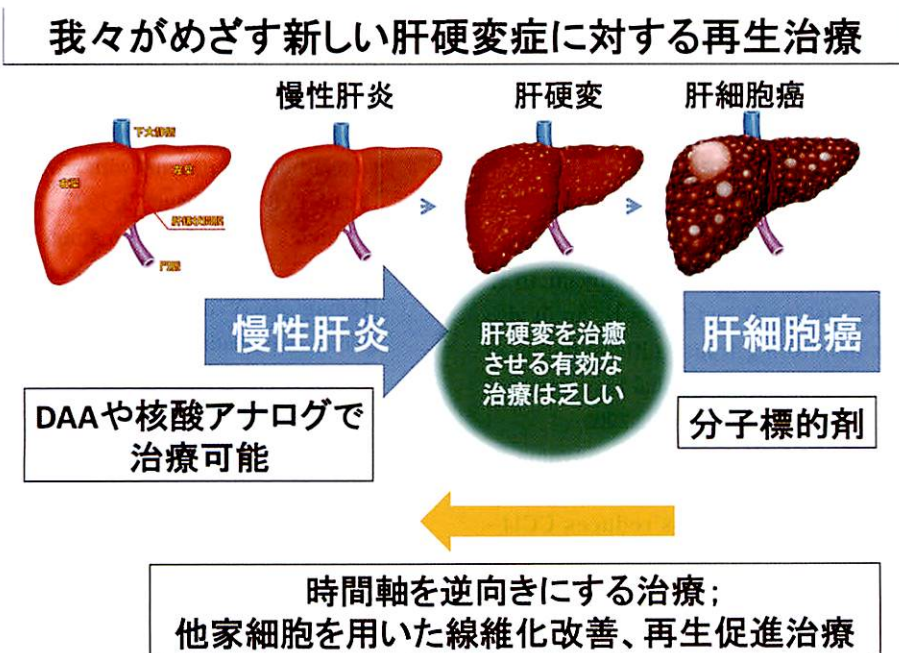


図 2 新潟大学で開発を目指す治療

自己から他家間葉系幹細胞投与療法へそして他疾患への応用

再生医療新法として「医薬品医療機器等法」「再生医療等安全性確保法」が施行され今後次世代の再生医療の開発がさらに推進されると考えられる。新潟大学においては今までと違う新しい修復再生療法の開発を推進したいと考えている(図2)。今まで臨床では、血球細胞と間葉系細胞を含むヘテロな細胞が肝硬変に定着し肝臓を柔らかくすることが明らかになった。まずは原点にかえり、どの細胞分画が重要か明らかにしていく。また自己骨髄由来細胞を中心に開発してきたが、今後は他家細胞を用いた治療法を開発したいと考えている。他家の細胞由来の間葉系幹細胞を用いた肝硬変症に対する治療法等の開発を進めたいと考えている。そうなれば何度も細胞投与が可能になり、より多くの患者救命が可能になる。現時点で治療困難な胃粘膜切除術後あるいは炎症性腸疾患に伴う狭窄に対する治療法として応用可能になる。

謝 辞

ここに紹介した研究内容は、文部科学省科学研究補助金、厚生科学研究補助金、JST再生医療実現化プロジェクトの助成を受け実施された。

文 献

- 1) Terai S, Sakaida I, Yamamoto N, Omori K, Watanabe T, Ohata S, Katada T, Miyamoto K, Shinoda K, Nishina H and Okita K: An in vivo model for monitoring trans-differentiation of bone marrow cells into functional hepatocytes. *J Biochem (Tokyo)* 134: 551 - 558, 2003.
- 2) Sakaida I, Terai S, Yamamoto N, Aoyama K, Ishikawa T, Nishina H and Okita K: Transplantation of bone marrow cells reduces CCl4-induced liver fibrosis in mice. *Hepatology* 40: 1304 - 1311, 2004.
- 3) Iimuro Y, Nishio T, Morimoto T, Nitta T, Stefanovic B, Choi SK, Brenner DA and Yamaoka Y: Delivery of matrix metalloproteinase - 1 attenuates established liver fibrosis in the rat. *Gastroenterology* 124: 445 - 458, 2003.
- 4) Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, Yokoyama Y, Uchida K, Yamasaki T, Fujii Y, Okita K and Sakaida I: Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells* 24: 2292 - 2298, 2006.
- 5) Terai S, Takami T, Yamamoto N, Fujisawa K, Ishikawa T, Urata Y, Tanimoto H, Iwamoto T, Mizunaga Y, Matsuda T, Oono T, Marumoto M, Burganova G, Fernando Quintanilha L, Hidaka I, Marumoto Y, Saeki I, Uchida K, Yamasaki T, Tani K, Taura Y, Fujii Y, Nishina H, Okita K and Sakaida I: Status and prospects of liver cirrhosis treatment by using bone marrow-derived cells and mesenchymal cells. *Tissue Eng Part B Rev*, 20: 206 - 210, 2014.
- 6) Kim JK, Park YN, Kim JS, Park MS, Paik YH, Seok JY, Chung YE, Kim HO, Kim KS, Ahn SH, Kim do Y, Kim MJ, Lee KS, Chon CY, Kim SJ, Terai S, Sakaida I and Han KH: Autologous bone marrow infusion activates the progenitor cell compartment in patients with advanced liver cirrhosis. *Cell Transplant*; 19: 1237 - 1246, 2010.
- 7) Mizunaga Y, Terai S, Yamamoto N, Uchida K, Yamasaki T, Nishina H, Fujita Y, Shinoda K, Hamamoto Y and Sakaida I: Granulocyte colony-stimulating factor and interleukin - 1beta are important cytokines in repair of the cirrhotic liver after bone marrow cell infusion: comparison of humans and model mice. *Cell Transplant* 21: 2363 - 2375, 2012.