

小児肝移植後肝芽腫再発に対する養子免疫療法確立に向けた基礎研究

国立成育医療研究センター 移植免疫研究室・RI 管理室

くすり総合学科バイオ医療研究専攻

松永 愛理

【背景・目的】

小児肝芽腫の治療成績は近年、抗がん剤等治療と肝切除・肝移植などの外科手術の組みあわせによって向上している。しかし、再発リスク因子を拾い上げても、従来の化学療法以外に有効な再発抑制目的の補助療法は確立されておらず、化学療法以外に有効な再発抑制治療の開発が望まれている。一方、広島大学では肝移植術後の肝細胞がん再発抑制に対してドナー肝臓由来活性化NK細胞をレシピエントに経静脈投与することで、術後無再発生存が有意に延長することを認められた。そこで本研究では、ドナー肝灌流液由来有核細胞 (Liver mononuclear cell: LMNC) がNK細胞のソースとして適しているか、またLMNC由来活性化NK細胞を用いた細胞療法で、抗腫瘍効果の検討を行った。

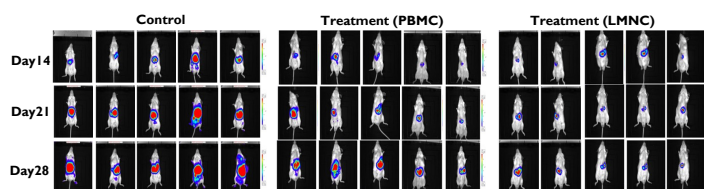
【方法】

まず、小児生体肝移植する際、ドナーLMNCを肝臓灌流液から回収し、末梢血有核細胞 (Peripheral blood mononuclear cell: PBMC) と比較しながら増殖能を確認した。次に、フローサイトメトリーでLMNCに含まれるNK細胞の割合と活性化マーカーの発現を確認したと同時に、活性化NK細胞関連遺伝子 mRNA の発現、qRT-PCRにて検討した。最後、超免疫不全 (BRJ) マウスを用いて、ヒト肝臓がん細胞株 HepG2/Luc をBRJマウス肝臓に移植し、担がんマウスモデルを作成し、経静脈にて数回活性化NK細胞の投与を行い、in vivoでのNK細胞の抗腫瘍効果を検討した。

【結果・考察】

LMNC及びPBMCともに細胞数の増殖が見られ、LMNCが40-60倍、PBMCで200倍の細胞数が獲得できることを確認できた。ドナーLMNCに含まれるNK細胞の割合と活性化マーカーの発現を、フローサイトメーターを用いて評価したところ、CD56高発現NK細胞がLMNCの方が有意に多いことがわかった。また、肝芽腫モデルマウスに対して、LMNC及びPBMC由来培養した活性化NK細胞の治療で、どちらも腫瘍の抑制ができ、LMNC由来NK細胞の効果が顕著であった (図1)。

図1. 抗腫瘍効果の検証



以上、肝移植時の廃棄するドナー肝灌流液を活用して、NK細胞への分化誘導ができ、肝移植後の肝芽腫再発抑制を目的とした養子免疫療法を行う基礎データを構築し、再生医療法に基づく非臨床POC試験および臨床試験の開始が可能となることが期待されたい。ドナー肝灌流液から培養したNK細胞は小児肝移植後の肝芽腫再発抑制に対する養子免疫療法のcell sourceとして使用可能である可能性が示された。