

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

医薬の門 (1999.08) 39巻4号:240～245.

【先端医療を支える新しい治療法】
Hybrid artificial liverと肝移植

葛西眞一、澤雅之

Hybrid artificial liverと肝移植



葛西

旭川医科大学第二外科 葛西真一, 澤 雅之

SUMMARY

肝細胞分離法の確立に伴い、遊離肝細胞を代謝リアクターとする Hybrid artificial liver (HAL) の研究開発が盛んに行われている。欧米では、すでに急性肝不全患者に対し HAL を用いた血液もしくは血漿灌流が試みられ、使用肝細胞数が全肝細胞数の 5% 以下であるにもかかわらず、ドナー肝入手までの数日間の bridge として成功している。本邦では、脳死ドナー肝の入手が極めて困難であり、生体部分肝移植にも限界があることから、長期間にわたる肝機能補助が必要である。また、本邦では血漿の使用が比較的安全に行えることから、血漿交換と持続血液濾過透析の組み合わせによる血液浄化法が積極的に行われ、従来法に比し著明な成績の向上が報告されている。したがって、本邦における HAL の臨床応用には、HAL に期待される肝機能補助能の再検討、および血液浄化法との比較検討が必要であろう。

KEY WORD

急性肝不全、ハイブリッド型人工肝臓、肝細胞移植、肝移植

はじめに

肝細胞の広範な壊死により引き起こされる急性肝不全は、消化管出血・脳浮腫・多臓器不全などの重篤な合併症を伴い予後不良である。Interferon, prostaglandins などの新しい薬物療法や血漿交換、血液吸着などの開発にも拘らず、肝移植以外に画期的な治療法はなく、その救命率は 30% 前後と未だに低いのが現状である¹⁾。欧米では、肝移植成績の飛躍的な向上に伴い、以前は適応外とされていた急性肝不全に対しても積極的に肝移植が行われるようになり、その 1 年生存率は約 70% にまで向上している²⁾。しかし、その一方で、臓器移植症例数の急激な増加に伴うドナー不足が深刻化しており、緊急性の高い急性肝不全では迅速に肝移植を受けられる患者は限られている。

近年、遊離肝細胞を代謝リアクターとするハイブリッド型人工肝臓および肝細胞移植が再び注目され、欧米ではすでに肝移植までの bridge-use として臨床治験が試みられている³⁻⁵⁾。本稿では、急性肝不全治療の現況、急性肝不全に対する肝移植、ハイブリッド型人工肝臓の開発、および肝細胞移植の研究を概説する。

本邦における急性肝不全治療の現況

近年わが国では、使用血漿量の節約と、より効率の良い肝毒性物質の除去を目的とした、血漿交換と持続血液濾過透析の組み合わせが試みられ、良好な成績が報告されている。与芝らの報告では、急性型、亜急性型を併せた劇症肝炎全体の覚醒率が 97%、救命率が 55.9% と著明な成績の向上が得られている⁶⁾。平澤らも、血漿交換単独に比べ高

い覚醒率、救命率を報告している⁷⁾。しかし、厚生省劇症肝炎分科会の報告では、1995年の急性型の生存率は50%以上と向上しているが、亜急性型ではまだ10%程度に低迷し、劇症肝炎全体の救命率は約30%程度である。

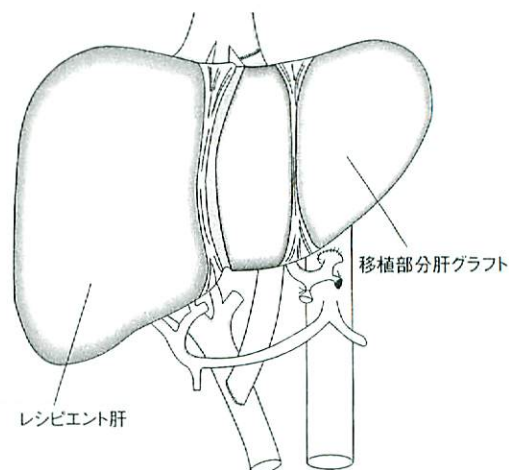
急性肝不全に対する肝移植

1. 欧米における肝移植の現況

急性肝不全は患者の全身状態が不良で、血液凝固障害などの重篤な合併症を伴うことにより肝移植の適応外とされてきた。しかし、新しい免疫抑制剤 cyclosporin の登場や術後管理技術の向上により、移植成績の飛躍的な改善がもたらされ、急性肝不全も肝移植の適応となり、その1年生存率は約70%程度である⁸⁾。肝臓は本来、旺盛な再生力を有していることから、同所性補助部分肝移植 (APOLT: 図1) が試みられている⁹⁾。本法の目的は、肝不全患者の障害肝の部分肝切除を行い、部分肝グラフトを同所性に移植して急性期の肝機能補助を行うことにより残存障害肝の再生を計ることである。残存障害肝が十分な肝機能を発現するまで再生した場合、免疫抑制剤の投与を中断することによりグラフトが拒絶され、ドナー肝の有効利用と副作用のある免疫抑制剤の投与中止が可能となる。また障害肝再生不全の場合は、免疫抑制剤の投与を継続し通常の肝移植と同様の経過をたどることになる。欧州で行われた multicenter trial の結果では、障害肝の再生がみられ免疫抑制剤の投与中止が可能となったのは50%程度で、残りの50%は残念ながら再生不全に陥り、免疫抑制剤の投与が継続されている。

2. わが国における生体部分肝移植の現況

わが国では、すでに1,000例近くの生体部分肝移植が行われ、その成績は脳死肝移植と遜色なく良好である¹⁰⁾。症例数は少ないが、劇症肝炎に対しても生体部分肝移植が行われ、また脳死肝移植の場合と同様に障害肝の再生を期待した APOLT



左：レシビエントの残存肝、右：移植部分肝グラフト

図1 同所性補助部分肝移植 (APOLT) の術式

も少数ながら試みられている¹¹⁾。脳死法案制定後1年を経た今日、ようやく脳死患者からの臓器移植が再開された。しかし、ドナー不足は欧米とは比較の対象とならないぐらい深刻であり、現時点では緊急性を要する急性肝不全への対応はほとんど不可能といっても過言ではない。

ハイブリッド型人工肝臓

1. 基礎的研究の現況

1960年代後半にコラゲナーゼ消化法が開発され、活性の高い肝細胞の分離が可能となった¹²⁾。1980年代に入り、分離肝細胞を代謝リアクターとするハイブリッド型人工肝臓の研究開発が盛んに行われた¹³⁾。著者らは、Beagle 犬の肝臓より分離した約40gの肝細胞浮遊液を膜外スペースに封入する液槽型 PMMA 中空糸膜 (分画分子量: 10万) モジュールを試作した。D-galactosamine 誘導急性肝不全犬と約6時間の血液灌流を行い生存時間の有意な延長を認めた。しかし、O₂ gas の bubling で肝細胞に対する酸素供給を行ったため、灌流中にリアクター内肝細胞の viability が約60%程度まで低下した¹³⁾。米国の Matsumura らは、ウサギ肝

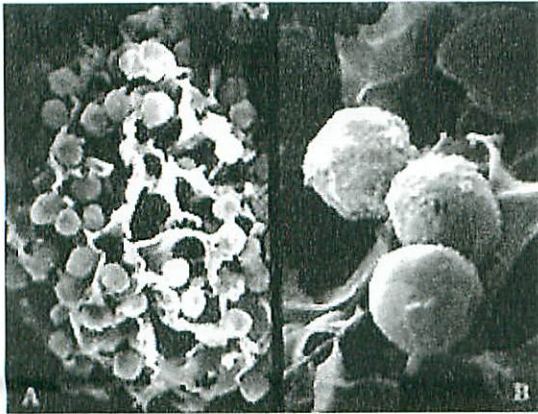


図2 セルロースマイクロキャリア接着ラット肝細胞
(左:×350, 右:×700)

細胞を透析用中空糸膜モジュールの膜外スペースに封入して悪性黄疸患者に血液灌流を行い、一時的な減黄効果と症状の改善を報告している¹⁴⁾。

肝細胞は何らかの細胞外基質に接着することにより、高い細胞機能の発現と機能長期維持が可能となる。そこで、被包化、マイクロキャリア、多孔質担体、コラーゲンコート中空糸膜などのさまざまな細胞外接着基質の応用が検討されている¹⁵⁾。米国のDixitらは、免疫隔離法のひとつとして肝細胞の被包化を試み、先天性代謝異常ラットへの腹腔内移植による減黄効果を認めた¹⁶⁾。ハイブリッド型人工肝での使用を考慮した場合、中空糸膜を必要とせず簡便かつ安価な方法であるが、臨床応用には300g程度の大量の肝細胞が必要と考えられ、被包化に伴う容積の増大すなわち装置の大型化が問題である。また、機械的な力によりカプセルが破損した場合、流出した肝細胞が直接血中もしくは血漿中に混入してしまう危険性がある。

セルロース由来多孔質マイクロキャリアは、比重が1.03と軽く浮遊培養に適し、内部に細胞を保持することにより、外力から細胞を保護することが可能である。ラット肝細胞を用いた著者らの検討では、肝細胞は球形を維持したままマイクロキャリアの中心部まで接着しているのが観察され

た(図2)。また、マイクロキャリア接着肝細胞は、浮遊培養において単層培養肝細胞と同等のアンモニア代謝およびグルコース合成能を示し、また9時間にわたる灌流においても肝細胞機能が維持されていた¹⁷⁾。

本邦の小出らは、肝細胞同士を接着させることにより肝細胞スフェロイドを作成し、単層培養肝細胞より高い細胞機能を発現することを報告している¹⁸⁾。船津らは、肝細胞スフェロイドが充填されているポリウレタンフォーム(PUF)モジュールを用いて虚血性肝不全豚の血漿灌流を行い、血中アンモニア濃度の低下および生存時間の延長を認めた¹⁹⁾。本モジュールは、必要肝機能補助量に応じたスケールアップが可能であり、今後の進展が期待される。

ドイツのBrunnerらは、肝不全起因物質の多くが脂溶性であることに注目し、抽出肝酵素と親脂性膜を組み合わせて脂溶性肝不全起因物質の選択的除去を試みた²⁰⁾。本法の原理は、1)親脂性中空糸膜モジュールの膜内スペースを灌流する血液、もしくは血漿中の脂溶性肝不全起因物質が選択的に膜を透過、2)膜を透過した物質は膜外スペースを灌流している抽出肝酵素によって解毒・代謝されて水溶性に変化し、親脂性膜を再び透過できなくなることである。肝酵素は、豚などの動物肝から容易に抽出でき、長期冷凍保存も可能である。しかし、本法は解毒・代謝機能しか代行できないことから、血漿交換など他の血液浄化療法との組み合わせが今後の検討課題である。

1980年代に血液型がヒトに類似していることからヒヒ肝体外灌流が試みられたが、覚醒率の向上は得られたものの救命率は33%と期待したほどの成果が得られなかった²¹⁾。当時の技術では手技が煩雑であり、ヒヒ肝自体の機能維持が困難であった。また、ヒヒ肝の入手も困難かつ高価であり、動物愛護団体の強い反対などもあり、その後は行われなくなった。近年の生体工学や分子生物学領

域の急速な進歩は、体外灌流技術や免疫学的反応の制御に飛躍的な改善をもたらしている。本邦の山岡らは、入手の容易な豚肝を用いた異種肝体外灌流の再検討に取り組み、現在特殊な抗体を用いて異種肝体外灌流時の補体活性などの異種免疫反応の克服を試みている²²⁾。

2. 臨床応用

米国のSussmanらは、臨床での緊急需要に対応すべく肝細胞の安定供給を目的として旺盛な増殖力を有する肝芽細胞腫由来の株化細胞 (C3A) の利用を試みた (図3a)。約40gのC3Aを中空糸膜モジュールの膜外スペースに播種し、約200gまで分裂増殖させて急性肝不全患者への臨床応用を試みた³⁾。しかし、正常肝細胞に比べて細胞機能が著しく低いことからシステム全体の機能が低く、期待したほどの成果は得られていない。

米国のDemetriouらは、膜外スペースに約50gのデキストランマイクロキャリア接着豚肝細胞 (図3b) を封入した中空糸膜モジュールと活性炭吸着カラムの組み合わせによる人工肝機能補助システムを製作し、急性肝不全患者に対する血漿灌流を行っている⁴⁾。急性型劇症肝炎患者に対する6~9時間にわたる血漿灌流では、血中アンモニア濃度、頭蓋内圧の低下、循環動態の安定化などが認められ、18例中16例における肝移植用ドナー肝入手までのbridge-useに成功している。Acute on chronic型では、一時的な検査所見の改善はみられたものの、さまざまな理由で肝移植の適応からはずされていたため、10例中8例は死亡している。本臨床試験は肝移植ま

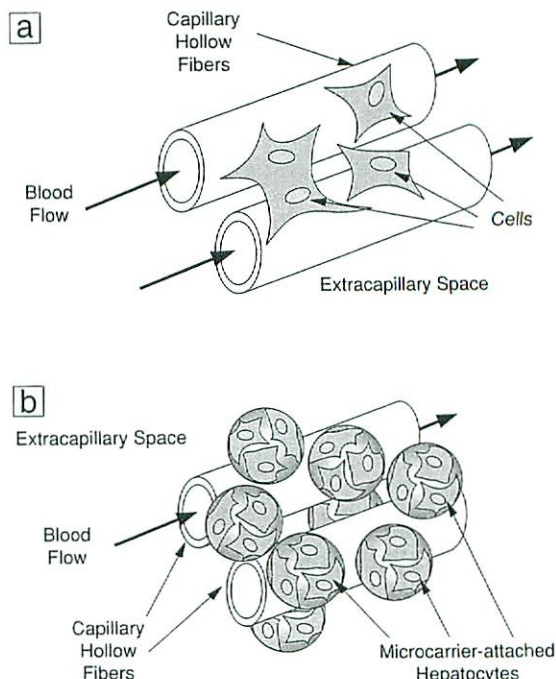


図3 a: ヒト肝芽細胞腫由来株化細胞 (C3A) を用いた hybrid artificial liver (Sussman et al.)
b: デキストランマイクロキャリア接着豚肝細胞を用いた hybrid artificial liver (Demetriou et al.)

表1 実験的急性肝不全に対する肝細胞移植

	Year	AHF model	Species	Cell Nr & Site	Survival (cont)
Sutherland	1977	DMNA, D-gal	Rat (iso)	2-4 × 10 ⁷ (i.s, i.p, i.v)	63% (17%)
Arranz	1977	D-gal	Rat (iso)	1 × 10 ⁷ (i.s)	64% (22%)
Makowka	1980	D-gal	Rat (iso)	4 × 10 ⁷ (i.p)	70% (0%)
Sommer	1980	Ischemic	Dog (auto)	2 × 10 ⁷ (i.s)	70% (20%)
Bismuth	1984	75% PH	Rat (iso)	2 × 10 ⁷ (i.s)	53% (30%)
Uotsu	1986	CCI ₄	Rat (iso)	1 × 10 ⁷ (i.s)	82% (40%)
Sano	1989	D-gal	Rat (allo)	Fetal liver tissue 100 pieces (omentum)	66.7% (7%)
Bengmark	1991	90% PH	Rat (iso)	1 × 10 ⁷ (i.s)	85% (0%)
Makowka	1980	D-gal	Rat (iso)	Bone marrow cells 2 × 10 ⁷ (i.p)	62.5% (0%)
Miyazaki	1983	5-FU	Rat (iso)	Regenerative liver cytosol (i.p)	80% (29%)
Baumgartner	1983	D-gal	Rat (iso)	Hepatocyte culture supernatant (i.p)	42.9% (0%)



図4 豚肝細胞3次元培養ベルリン型 hybrid artificial liver

でのわずか数日間の補助の結果であり、リアクター内の肝細胞が約50g程度と少なく凍結保存肝細胞であることを考慮すると、直接的な肝機能補助による生命維持か否かはさらなる検討を要すると思われる。

ドイツのGerlachらは、酸素供給用のcapillaryをも内部に有する特殊な中空糸膜モジュール(図4)内に、全肝の約30%に相当する500~600gの豚肝細胞を封入し、急性肝不全患者に対する最長約40時間の血液灌流を行い、肝移植までの数日間のbridgeに成功した⁵⁾。

急性肝不全に対する肝細胞移植の現況

実験的急性肝不全動物に対する肝細胞移植では、いずれも移植細胞数が全肝の5%以下と少なく、また肝細胞のみならず骨髄細胞、肝細胞培養液、再生肝細胞ホモジネートなどの腹腔内注入でも生存率の改善がみられている(表1)。

米国のStromらは、何らかの理由で移植に用いられなかったヒト肝から肝細胞を分離し、急性肝不全患者への脾内肝細胞移植を行った²³⁾。この場合も、移植肝細胞数が全肝のわずか1%以下であり、細胞活性の低い凍結保存肝細胞を移植しているにもかかわらずハイブリッド型人工肝臓の場合

表2 臨床肝細胞移植

症例	細胞数 (viability)	補助期間 (日)	在院期間 (移植後)	結果
1	2.2×10^7 (30%)	2, 肝+腎移植	76	生存
2	7.5×10^6 (50%)	4, 頭蓋内出血	4	死亡, ICPモニターよりの出血
3	5.2×10^7 (66%)	7, 治療中止	7	改善(-)のため治療中止
4	2.8×10^7 (86%)	10, 肝移植	62	生存
5	16.9×10^7 (56%)	3, 肝移植	41	生存

(Strom S, et al. 1997)

と同様に血中アンモニア濃度と頭蓋内圧の低下などを認め、5例中3例において肝移植までのbridgeに成功している。

将来の展望

わが国では欧米に比べて脳死ドナー肝の入手は極めて困難であり、それに要する時間も大幅に延長することが予想される。したがって、たとえ移植までのbridge-useとしても長時間の肝機能補助が必要である。今日、増殖能を有する不死化肝細胞などさまざまな細胞が研究され、装置工学的な工夫などにより、肝細胞培養技術の飛躍的進歩がもたらされている。一方、与芝、平澤らによって血漿交換と血液透析・濾過を効率良く組み合わせた新しい血液浄化法が試みられ、良好な治療成績が報告されている。このように血液浄化療法による急性肝不全の治療成績が向上しつつある今日、ハイブリッド型人工肝臓に求められる機能の再検討、および血液浄化法との比較検討が必要であろう。

文 献

- 1) Hoofnagel J, et al: Fulminant hepatic failure; Summary of a workshop. Hepatology 1995; 21: 240.

- 2) Chapman RW, et al : Liver Transplantation for acute hepatic failure? Lancet 1990 ; 335 : 32.
- 3) Kelly J, et al : The hepatic extracorporeal liver assist device in the treatment of fulminant hepatic failure. ASAIO J 1994 ; 40 (1) : 83.
- 4) Watanabe FD, et al : Clinical experience with a bioartificial liver in the treatment of severe liver failure. A phase I clinical trial. Ann Surg 1997 ; 225 : 484.
- 5) Gerlach JC : Development of a hybrid liver support system : a review. Int J Artif Organs 1996 ; 19 : 645.
- 6) Yoshida M, et al : Favorable effect of new artificial liver support on survival of patients with fulminant hepatic failure. Artif Organs 1996 ; 20 : 1169.
- 7) 平澤博之, 他 : 持続的血漿交換 (CPE) および持続的血液濾過透析 (CHDF) 併用による人工肝補助療法 (ALS) の検討. 人工臓器 1994 ; 23 : S-5.
- 8) Yeganehfer W, et al : Liver transplantation for acute liver failure. Wiener Klinische Wochenschrift 1998 ; 110 : 570-8.
- 9) Marie-Pierre Chenard-Neu, et al : Auxiliary liver transplantation : Regeneration of the native liver and outcome in 30 patients with fulminant hepatic failure-A multicenter european study. Hepatology 1996 ; 23 : 1119-27.
- 10) Tojimbara T, et al : Analysis of the risk and surgical stress for donors in living-related liver transplantation. Transplant Proc 1998 ; 31 : 507-8.
- 11) Yabe S, et al : Auxiliary partial orthotopic liver transplantation from living donors : significance of portal blood flow. Transplantation 1998 ; 66 : 484-8.
- 12) Berry MN, et al : High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells. -A biochemical and tissue structure study. J Cell Biol 1969 ; 43 : 506.
- 13) 葛西眞一, 他 : Hybrid Artificial Liver の研究—ガラクトサミン肝不全犬による代謝補助システムの機能と安全性の検討—, 人工臓器 1987 ; 16 : 912.
- 14) Matsumura KN, et al : Hybrid bioartificial liver in hepatic failure : Preliminary clinical report. Surgery 1987 ; 101 : 99.
- 15) Kasai S, et al : Is bioartificial liver clinically applicable? A historic review of biological artificial liver support systems. Artif Organs 1994 ; 18 : 348.
- 16) Dixit V, et al : Improved function of microencapsulated hepatocytes in a hybrid artificial liver support system. Artif Organs 1992 ; 16 : 336.
- 17) Kino Y, et al : Multiporous cellulose microcarrier for the development of a hybrid artificial liver using isolated hepatocytes. J Surg Res 1998 ; 79 : 71.
- 18) Koide N, et al : Continued high albumin production by multicellular spheroids of adult rat hepatocytes formed in the presence of liver-derived proteoglycans. Biophys Res Commun 1989 ; 161 : 385-91.
- 19) Ijima H, et al : Formation of a spherical multicellular aggregate (spheroid) of cells in the pores of polyurethane foam as a cell culture substratum its application to a hybrid artificial liver. Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition 1998 ; 9 : 765-78.
- 20) Konstantin P, et al : Artificial liver. Artif Organs 1992 ; 16 : 234.
- 21) Lie TS : Extracorporeal hemoperfusion over the human and baboon liver. Artificial Liver Support. eds by Brunner G et al. Springer Verlag 1991 : 211.
- 22) Terajima H, et al : Successful long-term xenoperfusion of the pig liver : continuous administration of prostaglandin E1 and insulin. Transplantation 1997 ; 63 : 507.
- 23) Strom SC, et al : Hepatocyte transplantation as bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure. Transplantation 1997 ; 63 : 559.

著者連絡先

旭川医科大学第二外科

〒078-8510 旭川市西神楽4線5号

FAX : 0166-68-2193

E-mail : kasai@asahikawa-med.ac.jp