

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 創薬基盤推進研究事業
(英語) Research on Development of New Drugs
- 研究開発課題名： (日本語) 肝移植後微小血管障害症に対する補体制御の有効性に関する医師主導型第Ⅱ/Ⅲ相治験
(英語) Investigator-Initiated Phase II/III Study on Efficacy and Safety of Eculizumab for Thrombotic Microangiopathy after Living-Donor Partial Liver Transplantation
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科医学専攻
教授 / 医学研究科長 上本 伸二
- 所属 役職 氏名： (英語) Professor Shinji Uemoto, M.D., Ph.D.,
Department of Surgery, Division of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery
and Transplantation, Kyoto University Graduate School of Medicine.
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 肝移植・肝虚血再灌流障害・劇症肝不全における抗 C5 抗体の治療効果の
検証
- 開発課題名： (英語) Therapeutic Impact of Anti-complement C5 Antibody against Critical
Liver Diseases; Liver Transplantation, Ischemia/Reperfusion, and
Fulminant Hepatic Failure
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科医学専攻
助教 秦 浩一郎
- 所属 役職 氏名： (英語) Koichiro Hata, M.D., Ph.D.,
Department of Surgery, Division of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery
and Transplantation, Kyoto University Graduate School of Medicine.

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

【臨床試験（医師主導治験）】

当初、肝移植後微小血管障害症（以下 LTx-TMA）に対する抗補体 C5 抗体 エクリズマブ（ソリリス®）の第Ⅱ/Ⅲ相医師主導型治験を計画していたが、治験開始前の PMDA 対面助言（2015/3/16）において、「関連学会等を通じて、LTx-TMA の疾患概念の確立、診断基準の策定等が成されることが望ましい」、「その上で、まずは本学単施設による安全性試験を実施し、同試験において探索的に有効性を検討するデザインへの変更が望ましい」との助言を頂いた。これに基づき、安全性評価を primary endpoint とし、副次的にその有効性を検証する第Ⅰ相試験へ治験計画を変更した。

一方で、治験薬提供元より、腎移植領域での国際治験結果を受け、2015 年 11 月、本治験においても、以下二点が確認できなければ治験薬提供ができない、との方針変更の通達があった。

- A) 生体肝移植動物実験モデルなど非臨床試験において、補体関与の確証を得ること
- B) 肝移植臨床データの再レビュー等により、LTx-TMA 病態における補体関与の確証を得ること

2016 年 1 月、正式な文書により、治験開始前に非臨床試験を遂行し、その結果に基づいて臨床試験実施の可否を Alexion 社が判断する、との通達であった。

2016/1/15、上記経緯を AMED 医薬品研究課に御報告の上、本研究課題の今後について御相談させて頂いた。まずは非臨床試験を遂行し、エビデンス構築に向け邁進するよう助言を頂いた。

【非臨床試験 / 基礎研究】

以上の経緯を受け、2016 年 1 月、同社と非臨床試験に関する協議を行い、肝虚血再灌流障害モデル、肝移植モデルを用いた非臨床試験を遂行することとなった。Materials 供与のあった 2017 年 2 月より非臨床試験を開始、現在も研究継続中である。

今後は、動物モデルでの検証を進めると共に、更なる病態解明と保護効果の検証に邁進する所存である。

研究成果概要（英文）：

Liver transplantation (LTx) has emerged as the last therapeutic option for end-stage liver diseases, however, perioperative mortality/morbidity after LTx is still high. One possible therapeutic target is ischemia reperfusion injury (IRI) of liver grafts, which provokes unfavorable disorders to transplanted livers, leading to delayed graft function or primary non-function. In such critical pathology, the complement system has been proven to be involved, however, the degree of their contribution to liver damages as well as the precise underlying mechanisms has long been in darkness, since we have no useful tools to reveal it.

Recently, humanized monoclonal anti-C5 antibody, Eculizumab, was developed, and has been translated into clinical practice for PNH (paroxysmal nocturnal hematuria) and aHUS (atypical hemolytic uremic syndrome), exhibiting the strongest power than ever, against complement-associated thrombotic microangiopathy (TMA). We hypothesized that Eculizumab would be a promising remedy to improve acute and critical liver diseases, in which TMA-like disorders exist, and the primitive immune responses seem to be involved, such as IRI, LTx and fulminant hepatic failure.

Before clinical application, it should be required to verify the protective effects of C5 blockade in pre-clinical studies. Thus, we have been performing the following animal studies.

- 1) Mice model of warm hepatic IRI (70% partial hepatic ischemia for 90 minutes).
- 2) Rat model of orthotopic whole and partial liver transplantation (OLT)

Meanwhile, we have been trying to establish novel assays for complement and ADA13 activity in collaboration with Bio-Rad laboratories, Inc. The latter has been successfully achieved, and we are now targeting for MAC (membrane attack complex) activities both in clinical and research settings.

In conclusion, we have been, and will be continuing to investigate therapeutic impact of complement regulation in liver surgeries. Further studies are now under investigation.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 件、国際誌 件)

1: Kubota T, Hata K, Sozu T, Ueda Y, Hirao H, Okamura Y, Tamaki I, Yoshikawa J, Kusakabe J, Tanaka H, Kageyama S, Anazawa T, Yoshizawa A, Yagi S, Yamashiki N, Okajima H, Kaido T, Uemoto S. Impact of Donor Age on Recipient Survival in Adult-to-adult Living-donor Liver Transplantation. *Ann Surg*. 2017 Mar 10. doi: 10.1097/SLA.0000000000002194. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 28288061.

2: Okamura Y, Hata K, Uemoto S. Reply to "Representing Subnormothermic Machine Perfusion in Fatty Livers: The Complete Picture?" *Am J Transplant*. 2017 May;17(5):1423-1424. doi: 10.1111/ajt.14254. Epub 2017 Mar 27. PubMed PMID: 28251800.

3: Okamura Y, Hata K, Tanaka H, Hirao H, Kubota T, Inamoto O, Kageyama S, Tamaki I, Yermek N, Yoshikawa J, Uemoto S. Impact of Subnormothermic Machine Perfusion Preservation in Severely Steatotic Rat Livers: A Detailed Assessment in an Isolated Setting. *Am J Transplant*. 2017 May;17(5):1204-1215. doi: 10.1111/ajt.14110. Epub 2016 Dec 19. PubMed PMID: 27860296.

4: Sabra TA, Okajima H, Yoshizawa A, Okamoto T, Anazawa T, Ygi S, Hata K, Yasuchika K, Taura K, Hatano E, Kaido T, Uemoto S. Portal vein reconstruction using vein grafts in pediatric living donor liver transplantation: Current status. *Pediatr Transplant*. 2017 May;21(3). doi: 10.1111/petr.12888. Epub 2017 Jan 22. PubMed PMID: 28111865

5: Iskandarov E, Kadaba Srinivasan P, Xin W, Bleilevens C, Afify M, Hamza A, Wei L, Hata K, Agayev B,

Tolba R. Protective Effects of Adenosine Receptor Agonist in a Cirrhotic Liver Resection Model. *Hepat Mon.* 2016 Jul 24;16(8):e36821. eCollection 2016 Aug. PubMed PMID: 27799962; PubMed Central PMCID: PMC5075226.

6: Kirino I, Fujimoto Y, Hata K, Uemoto S. Liver transplantation for acute liver failure accompanied by severe acute pancreatitis. *BMJ Case Rep.* 2016 Sep 6;2016. pii: bcr2016215959. doi: 10.1136/bcr-2016-215959. PubMed PMID: 27600056.

7: Okamura Y, Hata K, Inamoto O, Kubota T, Hirao H, Tanaka H, Fujimoto Y, Ogawa K, Mori A, Okajima H, Kaido T, Uemoto S. Influence of hepatorenal syndrome on outcome of living donor liver transplantation: A single-center experience in 357 patients. *Hepato Res.* 2017 Apr;47(5):425-434. doi: 10.1111/hepr.12764. Epub 2016 Jul 19. PubMed PMID: 27323334.

8: Uemura T, Wada S, Kaido T, Mori A, Ogura Y, Yagi S, Fujimoto Y, Ogawa K, Hata K, Yoshizawa A, Okajima H, Uemoto S. How far can we lower graft-to-recipient weight ratio for living donor liver transplantation under modulation of portal venous pressure? *Surgery.* 2016 Jun;159(6):1623-30. doi: 10.1016/j.surg.2016.01.009. Epub 2016 Feb 28. PubMed PMID: 26936527.

9: Kaido T, Ogawa K, Ogura Y, Hata K, Yoshizawa A, Yagi S, Ito T, Uemoto S. Liver Transplantation in Adults with Acute Liver Failure: A Single Center Experience over A Period of 15 Years. *Hepato gastroenterology.* 2015 Jun;62(140):937-41. PubMed PMID: 26902032.

10: Kaido T, Mori A, Ogura Y, Hata K, Yoshizawa A, Iida T, Yagi S, Uemoto S. Liver Transplantation for Non-B and Non-C Hepatocellular Carcinoma. *Hepato gastroenterology.* 2015 Jun;62(140):933-6. PubMed PMID: 26902031.

11: Sato A, Kaido T, Iida T, Yagi S, Hata K, Okajima H, Takakura S, Ichiyama S, Uemoto S. Bundled strategies against infection after liver transplantation: Lessons from multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Liver Transpl.* 2016 Apr;22(4):436-45. doi: 10.1002/lt.24407. PubMed PMID: 26824429.

12: Glowka TR, Wei L, Hata K, Afify M, Kalff JC, Minor T, Tolba RH. Oxygen Insufflation in University of Wisconsin Solution Ameliorates Reperfusion Injury in Small Bowel after Cold Storage and Reperfusion. *Ann Transplant.* 2015 Aug 13;20:469-77. doi: 10.12659/AOT.893732. PubMed PMID: 26268948.

13: Hirao H, Uchida Y, Kadono K, Tanaka H, Niki T, Yamauchi A, Hata K, Watanabe T, Terajima H, Uemoto S. The protective function of galectin-9 in liver ischemia and reperfusion injury in mice. *Liver Transpl.* 2015 Jul;21(7):969-81. doi: 10.1002/lt.24159. PubMed PMID: 25931247; PubMed Central PMCID: PMC4744675.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 境界グラフトの健全性維持と機能再生を目指した移植肝臓器保存戦略 京都大学の取り組み.
Author: 秦 浩一郎(京都大学 肝胆膵・移植外科学), 岡村 裕輔, 玉木 一路, Nigmat Yermek, 田中 宏和, 平尾 浩史, 久保田 豊成, 稲本 道, 吉川 潤一, 上本 伸二
Source : Organ Biology(1340-5152)23 巻 3 号 Page51(2016.10)
2. 移植肝冷保存後の経門脈的水素灌流は、冷虚血/温再灌流障害を軽減する.
Author : 玉木 一路(京都大学 大学院医学研究科肝胆膵・移植外科学), 秦 浩一郎, 岡村 裕輔, Nigmat Ermek, 平尾 浩史, 久保田 豊成, 稲本 道, 吉川 潤一, 上本 伸二
Source : Organ Biology(1340-5152)23 巻 3 号 Page70(2016.10)
3. Koichiro Hata, Hirokazu Tanaka, Kayoko Endo, Hirofumi Hirao, Yusuke Okamura, Toyonari Kubota, Osamu Inamoto, Ichiro Tamaki, Yermek Nigmat, Hideaki Okajima, Toshimi Kaido, Akira Shimizu, and Shinji Uemoto. Post-operative thrombocytopenia determines the fate of adult-to-adult living donor partial liver transplantation; Proposal of “Thrombotic Microangiopathy (LTx-TMA) Score” 26th The Transplant Society (TTS) Congress, August 19-23, 2016, Hong Kong.
4. Yusuke Okamura, Koichiro Hata, Ichiro Tamaki, Yermek Nigmat, Osamu Inamoto, Toyonari Kubota, Hirofumi Hirao, Shintaro Yagi, Atsushi Yoshizawa, Hideaki Okajima, Toshimi Kaido, and Shinji Uemoto. Impact of Hepatorenal Syndrome on Outcome of Living Donor Liver Transplantation: A Single-Center Experience in 357 Patients. 26th The Transplant Society (TTS) Congress, August 19-23, 2016, Hong Kong.
5. 再(再々)肝移植例に対する脳死ドナー肝の配分の是非 自験 111 例の解析から
Author: 秦 浩一郎(京都大学 肝胆膵・移植外科), 田嶋 哲也, 穴澤 貴行, 八木 真太郎, 吉澤 淳, 山敷 宣代, 岡島 英明, 海道 利実, 上本 伸二
Source : 移植(0578-7947)51 巻総会臨時 Page265(2016.09)
6. 生体肝移植 260 例における early allograft dysfunction の検討
Author : 岡村 裕輔(京都大学 肝胆膵移植外科), 八木 真太郎, 吉澤 淳, 加茂 直子, 山敷 宣代, 秦 浩一郎, 岡島 英明, 海道 利美, 上本 伸二
Source : 移植(0578-7947)51 巻総会臨時 Page247(2016.09)
7. Yusuke OKAMURA, Koichiro HATA, Hirokazu TANAKA, Hirofumi HIRAO, Toyonari KUBOTA, Osamu INAMOTO, Kentaro KADONO, Shoichi KAGEYAMA, Benedict M Doorschodt, Rene H Tolba, and Shinji UEMOTO. Subnormothermic Machine Perfusion Preservation of >30% Macro-steatotic Livers; A New Means to Expand the Donor Pool? 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation (ESOT), 13-16 September 2015, Brussels, Belgium

8. Toyonari Kubota, Koichiro Hata, Takashi Sozu, Hirokazu Tanaka, Hirofumi Hirao, Yusuke Okamura, Osamu Inamoto, Kohei Ogawa, Yasuhiro Fujimoto, Akira Mori, Hideaki Okajima, Toshimi Kaido, and Shinji Uemoto. Impact of Donor Age on Patients' Survival of Adult Living Donor Partial Liver Transplantation: Single-Center Experience in 316 Patients. 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation (ESOT), 13-16 September 2015, Brussels, Belgium
9. Hirofumi Hirao, Koichiro Hata, Hirokazu Tanaka, Shoichi Kageyama, Yusuke Okamura, Toyonari Kubota, Osamu Inamoto, Kentaro Kadono, and Shinji Uemoto. Impact of ADAMTS13, von Willebrand factor-cleaving protease, on hepatic ischemia/reperfusion injury. 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation (ESOT), 13-16 September 2015, Brussels, Belgium
10. Hirokazu Tanaka, Koichiro Hata, Hirofumi Hirao, Yusuke Okamura, Toyonari Kubota, Osamu Inamoto, Shoichi Kageyama, Kohei Ogawa, Yasuhiro Fujimoto, Akira Mori, Hideaki Okajima, Toshimi Kaido, and Shinji Uemoto. Post-operative thrombocytopenia may determine the fate of adult-to-adult living donor partial liver transplantation; Proposal of "Thrombotic Microangiopathy (LTx-TMA) Score". 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation (ESOT), 13-16 September 2015, Brussels, Belgium
11. Yusuke OKAMURA, Koichiro HATA, Hirokazu TANAKA, Hirofumi HIRAO, Toyonari KUBOTA, Osamu INAMOTO, Kentaro KADONO, Shoichi KAGEYAMA, Benedict M Doorschodt, Rene H Tolba, and Shinji UEMOTO Subnormothermic Machine Perfusion Preservation of >30% Macro-steatotic Livers; A New Means to Expand the Donor Pool? The 50th Congress of the European Society for Surgical Research (ESSR), Liverpool, UK, 10-13th June, 2015.
12. 肝胆膵 脂肪肝グラフトに対する室温灌流保存の保護効果 "Extended-criteria donor"の移植利用に向けて
Author : 岡村 裕輔(京都大学 肝胆膵・移植外科), 秦 浩一郎, 田中 宏和, 稲本 道, 門野 賢太郎, 久保田 豊成, 平尾 浩史, 影山 詔一, 上本 伸二
Source : 日本外科学会定期学術集会抄録集 115 回 Page OP-078-6(2015.04)
13. 肝胆膵 脳死肝腎同時移植の経験
Author : 小川 晃平(京都大学 肝胆膵・移植外科), 海道 利実, 岡島 英明, 森 章, 藤本 康弘, 植村 忠廣, 秦 浩一郎, 吉澤 淳, 上本 伸二
Source : 日本外科学会定期学術集会抄録集 115 回 Page OP-070-2(2015.04)
14. 肝胆膵 門脈血栓症例に対する肝移植術後合併症
Author : 森 章(京都大学 肝胆膵・移植外科), 海道 利実, 飯田 拓, 秦 浩一郎, 植村 忠廣, 藤本 康弘, 小川 晃平, 岡島 英明, 上本 伸二
Source : 日本外科学会定期学術集会抄録集 115 回 Page OP-069-7(2015.04)

15. 世界へ発信する移植外科医療 成人生体肝移植における肝静脈再建と門脈再建の標準化
Author: 森 章(京都大学 大学院肝胆膵・移植外科学), 海道 利実, 小川 晃平, 藤本 康弘, 秦 浩一郎, 堀 智英, 八木 真太郎, 波多野 悦朗, 岡島 英明, 上本 伸二
Source: 日本消化器外科学会総会 70 回 Page SY-6-3(2015.07)
16. 臓器移植法案改正がもたらした移植の変化 臓器移植法改正がもたらした急性肝不全に対する初期治療アルゴリズムの変化
Author: 秦 浩一郎(京都大学 大学院肝胆膵・移植外科学), 宮田 仁美, 山田 博之, 八木 真太郎, 小川 晃平, 岡島 英明, 海道 利実, 塚本 達雄, 柳田 素子, 上本 伸二
Source: 日本消化器外科学会総会 70 回 Page WS-8-3(2015.07)
17. 室温灌流保存は>30%大滴性脂肪肝グラフトの PNF を抑制し、移植可能肝へと変貌させる
Author: 岡村 裕輔(京都大学 大学院肝胆膵・移植外科学), 秦 浩一郎, 田中 宏和, 平尾 浩史, 久保田 豊成, 稲本 道, 門野 賢太郎, 影山 詔一, 上本 伸二
Source: 日本消化器外科学会総会 70 回 Page O-23-4(2015.07)
18. 肝虚血再灌流障害における ADAMTS13 の役割
Author: 平尾 浩史(京都大学 大学院肝胆膵・移植外科学), 秦 浩一郎, 田中 宏和, 岡村 裕輔, 久保田 豊成, 稲本 道, 影山 詔一, 上本 伸二
Source: 日本消化器外科学会総会 70 回 Page O-23-2(2015.07)
19. 肝腎症候群合併例に対する生体肝移植の治療成績 自験 349 例の解析から
Author: 岡村 裕輔(京都大学 大学院医学系研究科肝胆膵・移植外科), 秦 浩一郎, 平尾 浩史, 久保田 豊成, 稲本 道, 堀 智英, 八木 真太郎, 飯田 拓, 吉澤 淳, 小川 晃平, 藤本 康弘, 宮田 仁美, 森 章, 岡島 英明, 海道 利実, 塚本 達雄, 柳田 素子, 上本 伸二
Source: 移植(0578-7947)50 巻 4-5 号 Page519(2015.10)
20. 肝移植周術期における血小板、凝固・線溶動態からみた抗凝固療法について
Author: 秦 浩一郎(京都大学 大学院医学系研究科肝胆膵・移植外科), 飯田 拓, 堀 智英, 八木 真太郎, 小川 晃平, 藤本 康弘, 森 章, 岡島 英明, 海道 利実, 上本 伸二
Source: 移植(0578-7947)50 巻 4-5 号 Page503(2015.10)
21. Hirokazu TANAKA, Koichiro HATA, Syoichi KAGEYAMA, Hirohumi HIRAO, Toyonari KUBOTA, Yusuke OKAMURA, Osamu INAMOTO, Kentaro KADONO, Yoihiro UCHIDA, and Shinji UEMOTO. Normothermic perfusion preservation protects non-parenchymal cells of liver grafts in rats. World Transplant Congress (WTC) July 26-31, 2014, San Francisco, USA.
22. Hirofumi Hirao, Koichiro Hata, Hirokazu Tanaka, Shoichi Kageyama, Yusuke Okamura, Toyonari Kubota, Osamu Inamoto and Shinji Uemoto. Impact of ADAMTS13, von Willebrand factor-cleaving protease, on hepatic ischemia/reperfusion injury; A preliminary study in mice. 49th Congress of the

European Society for Surgical Research (ESSR), 21-24 May 2014, Budapest, Hungary.

23. Y. Okamura, K.Hata, H. Tanaka, O. Inamoto, T. Kubota, H. Hirao, S. Kageyama, and S.Uemoto. Development of A New Method for Dual Machine Perfusion Preservation of Rat Livers. 12th Congress of the International Society for Experimental Microsurgery (ISEM) Kyoto, Japan, April 11-13, 2014
24. H. Tanaka, K. Hata, S. Kageyama, H. Hirao, Y. Okamura, K. Kubota, O. Inamoto, S. Uemoto. Impact of normothermic perfusion preservation on the protection of non-parenchymal cells of liver grafts in rats. 12th Congress of the International Society for Experimental Microsurgery (ISEM) Kyoto, Japan, April 11-13, 2014
25. S.Kageyama, S.Yagi, T.Kubota, Y.Okamura, M.Yoshimura, H.Hirao, H.Tanaka, S.Saito, K.Nagai, K.Hata, Y.Ogura, Y.Takada, R.Tolba, S.Uemoto. *Ex vivo* Graft reconditioning of livers donated after cardiac death with nitric oxide gas in rat liver transplantation. International Society for Experimental Microsurgery (ISEM), Kyoto, Japan, April 11-13, 2014

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願