

京都大学	博士（医学）	氏 名	影 山 詔 一
論文題目	Graft Reconditioning With Nitric Oxide Gas in Rat Liver Transplantation From Cardiac Death Donors (ラット心停止ドナー肝移植に対する一酸化窒素を用いた臓器保存法の検討)		
(論文内容の要旨)			
【背景と目的】肝疾患の末期に対する標準治療は現在のところ肝移植であるが、慢性的なドナー不足が最大の問題点である。ドナー不足の対策として、脂肪肝や生体ドナー、心停止ドナーからの肝移植があげられるが、これらは extended criteria donor（ECD）グラフトと称され、これらを用いることによって待機患者の死亡数を減少できると言われているが、一方で移植後肝不全のリスクを抱えている。境界ドナーに対して保存中の介入により現在の標準保存法である単純冷却保存中に受ける障害の軽減、さらには保存中のグラフト機能の向上を図る研究が進んでいる。その1つに体外低温下逆行性酸素灌流法（venous systemic oxygen persufflation: VSOP）があり、ECD グラフトへの効果が報告されている。しかしこれまでの結果は酸素灌流による活性酸素に対する抗酸化薬の投与が必須であった。一酸化窒素（NO）は抗酸化作用、ミトコンドリアの保護効果、微小循環改善効果など様々な機能の併存する生体内フリーラジカルであり、肝虚血再灌流障害に減少しており、補充により障害が軽減される。ここに注目し我々はラット肝移植モデルを用いて心停止後グラフトに対する NO ガスを併用した体外低温下逆行性酸素灌流法（venous systemic oxygen persufflation with NO : VSOP+NO）によるグラフトの reconditioning の効果を検討した。 【方法】Lewis ラットの心停止ドナー肝移植モデルを用い3時間の冷保存方法により2群（各 n=24）を作成した。control 群：単純冷保存。NO 群：VSOP+NO として冷保存中に酸素と NO ガスを経肝静脈的に投与した。 実験Ⅰ.心停止時間を30分と設定し、術後2、6、24、168時間に犠死させ（1）グラフト障害（2）肝組織中 IL-6、TNFα（3）eNOS、iNOS、endothelin-1（4）病理学的所見を検討した。実験Ⅱ.心停止時間を60分と設定し生存率を検討（n=7）。統計的解析は2-way ANOVA、生存率比較は log-rank 検定を用いた（control 群/NO 群）。 【結果】実験Ⅰ（mean $\pm$ SEM: group-C／group-NO） NO 群は（1）AST（p<0.0001: 6時間後; 5659/1526, p<0.001: 24時間後; 1820/729 IU/L, p<0.01）、ALT（p=0.0010; 6時間後; 4084/1089 IU/L, p<0.001）、ヒアルロン酸（p=0.0389）、MDA（p<0.0001）が低値であり、（2）6時間後の肝組織中 IL-6（p=0.046）、2時間後の TNF-α（p=0.0414）の発現が抑制された。同時に NO 群は（3）肝組織中の eNOS（p=0.0079）、endothelin-1（p=0.0040）が up-regulate された一方で iNOS（p=0.0162）は down-regulate、（4）組織所見(EM)で肝細胞のミトコンドリア・類洞内皮細胞の障害が軽減された。実験Ⅱ.NO 群は60分の心停止ドナー肝移植で生存率を著明に改善（10日間生存: control 群/NO 群: 0/71.4%, p<0.01）。 【考察】VSOP+NOは温阻血障害を受けたグラフトの reconditioning に効果的であることが示唆された。酸化ストレスの軽減がその一因と考えられた。			

(論文審査の結果の要旨)
慢性的ドナー不足の対策として心停止ドナーの使用があげられるが、肝温阻血に起因する移植後肝不全のリスクを抱えている。一酸化窒素 (NO) は抗酸化作用、ミトコンドリアの保護効果、微小循環改善効果など様々な効果を持ち、肝虚血再灌流障害において減少した NO を補充することによる臓器障害軽減が報告されている。申請者は、体外低温下逆行性酸素灌流法 (venous systemic oxygen persufflation: VSOP) に NO を加えた手法で、ラットの心停止後肝グラフトを用いた同種同所性肝移植モデルでのグラフト機能改善効果を解析・検討した。NO の投与で肝逸脱酵素、サイトカイン、酸化ストレス、ヒアルロン酸、iNOS、endothelin-1 の上昇が抑制され、一方で eNOS の回復が認められ、肝細胞障害の抑制、肝類洞内皮細胞障害の回復が示唆された。長時間温阻血による致死的モデルでは NO 投与群で著明な生存率の改善を認め、同モデルにおいて早期の酸化ストレスや endothelin-1 発現の抑制が認められたため、それらと早期グラフト不全の関与が示唆される結果を得た。
以上の研究は、心停止ドナーの肝移植後グラフト不全の発症機序と NO による障害抑制効果の解明に貢献し、心停止ドナーの障害を克服する保存法の臨床応用に寄与するところ大きい。
したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 9 月 18 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降