

京都大学	博士（医学）	氏名	岡村 裕輔
論文題目	<b>Impact of Subnormothermic Machine Perfusion Preservation in Severely Steatotic Rat Livers: A Detailed Assessment in an Isolated setting</b> (高度脂肪肝グラフトに対する室温灌流保存法の有効性：ラット肝体外灌流評価系による検討)		
(論文内容の要旨) <b>【背景と目的】</b> 世界的規模で進行する深刻なドナー不足を背景に、 <b>Extended-Criteria Donor (ECD)</b> (境界臓器) の移植利用が求められている。脂肪肝は罹患率増加もあり、摘出肝の約3割にも達するが、高度 (>50%) 大滴性脂肪肝は移植後グラフト不全率が高いため、通常は移植されずに破棄される。この背景には脂肪肝の冷虚血/温再灌流障害に対する脆弱性があり、ミトコンドリア機能不全、酸化ストレス障害、微小循環障害などに起因するとされる。現在でも世界標準の臓器保存法は単純冷却保存であり、冷虚血/温再灌流障害が不可避であるため、ECD 肝臓の移植利用において新たな臓器保存法の開発が喫緊の課題である。近年、保存中に酸素や栄養を臓器に供給し代謝を維持しながら、体外での臓器機能評価を可能とする常温 (32~38℃) ・室温 (20~25℃) 灌流保存法の有効性が報告され、特に室温灌流では酸素運搬体を要しない利点を有する。本研究では室温灌流保存による高度脂肪肝の保護効果について検討した。 <b>【方法】</b> 雄性 Wistar ラットに食餌性に50%程度の大滴性脂肪肝を誘導し、単純冷保存 (4℃HTK 液に浸漬) 或いは室温灌流保存を用いて保存した。室温灌流保存は動脈 (0.1mL/g-liver/min.) と門脈 (1mL/g-liver/min.) の両灌流とし、灌流液は Polysol 液 300mL を用い、酸素化 (>500mmHg) した。保存後、37℃の体外再灌流モデルにてグラフト肝の障害及び機能を比較・検討した。 <b>【結果】</b> 室温灌流保存中の門脈圧 (<3mmHg) 及び肝逸脱酵素 (ALT<5 IU/L) は低く保たれ、酸素消費量も維持された。再灌流後の ALT/AST ( $p<0.001$ )、HMGB-1 ( $p<0.001$ ) は室温灌流保存群で有意に低く、組織学的にも肝細胞空胞化などの障害が抑制された。グラフト肝機能の胆汁産生は室温灌流保存群で有意に多かった ( $p<0.001$ )。単純冷保存群では、ミトコンドリア逸脱酵素 GLDH の上昇 ( $p<0.001$ )、電子顕微鏡でのミトコンドリアの腫大が明らかであったが、室温灌流保存群ではこれらの障害は著明に抑制されていた。再灌流中の酸素消費率は単純冷保存群で高い ( $p=0.026$ ) にも関わらず、再灌流後の肝組織中 ATP 量は室温灌流保存群で有意に高かった ( $p=0.001$ )。この理由として、単純冷保存群では肝組織中の過酸化障害が強く (TBARS, $p=0.037$ )、肝組織中の抗酸化物質グルタチオンが枯渇しており ( $p=0.011$ )、酸化ストレス障害が高度であった。即ち室温灌流保存群では、維持されたミトコンドリア機能により酸素が ATP 貯蔵などに有効利用された一方で、単純冷保存群ではミトコンドリア機能の破綻と相まって、その多くが再酸素化障害 (活性酸素種の産生) に使用されたと考えられた。また単純冷保存群では門脈圧の上昇 ( $p=0.047$ )、類洞壁細胞機能の低下 (ヒアルロン酸クリアランス, $p=0.029$ )、及び電子顕微鏡にて類洞壁細胞の破壊が認められたが、室温灌流保存群ではそれらの障害が有意に抑制されていた。 <b>【考察】</b> 室温灌流保存は、酸化ストレス、ミトコンドリア変性、微小循環障害など高度脂肪肝に特徴的な病態を軽減することで、グラフト肝の保護及び機能維持			

に寄与したと考えられた。高度脂肪肝の移植利用率の向上とその成績改善に向けて、単純冷保存に代わる新たな臓器保存の可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

世界的規模で進行する深刻な肝移植ドナー不足を背景に、境界ドナー (障害臓器) の移植利用、並びに従来法に代わる新たな臓器保存法の開発が急務である。そこで保存中に酸素や栄養を供給し代謝を維持しながら、体外での機能評価や治療可能性をも有する灌流保存法の開発が期待される。本申請者は、従来法では移植不能とされる高度大滴性脂肪肝モデルを用い、室温灌流保存の有効性につき検証した。

ラット高度脂肪肝グラフトを4時間の単純冷保存或いは室温灌流保存後に、体外再灌流評価系を用いてその障害と機能を2群間で比較・検討した。

室温灌流保存群では肝細胞障害は低く、胆汁産生能は高かった。単純冷保存群ではミトコンドリア障害が著明であったが、室温灌流保存群ではその機能が維持され、より少ない酸素消費でより効率的なATP再合成を可能とした。冷保存群では、肝組織の酸化障害が顕著であり、門脈灌流圧の上昇、類洞壁細胞機能の低下及び構造破壊、胆管障害が認められたが、室温灌流保存群ではそれら全ての障害が有意に抑制された。即ち、室温灌流保存は、酸化ストレス、ミトコンドリア障害、微小循環障害などを軽減することで、高度脂肪肝グラフトの保護及び機能維持に寄与したと考えられた。

以上の研究は、室温灌流保存による脂肪肝グラフトの保護効果の解明に貢献し、障害肝の移植利用に向けた新規保存法の開発に寄与するところが多い。

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29年2月22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