

京都大学	博士（医学）	氏名	玉木 一路
論文題目	Hydrogen Flush After Cold Storage (HyFACS), as a new end-ischemic <i>ex vivo</i> treatment for liver grafts against ischemia/reperfusion injury (移植肝冷保存後の体外水素灌流(HyFACS)法は、虚血再灌流障害を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】</p> <p>虚血/再灌流傷害(Ischemia/Reperfusion Injury: IRI)は、移植後臓器機能不全や回復遅滞の要因であり、その軽減は半世紀以上に渡り移植医療における <i>Unmet needs</i> である。</p> <p>分子状水素(H₂)は、hydroxyl radical, Peroxynitrite 等の生体/組織に最も有害な活性酸素種(Reactive Oxygen Species: ROS)を選択的に除去する高い抗酸化能と共に、ROS 中和後に無害な水分子しか生じない決定的な安全性を有する。一方で、低溶解性、高い拡散(物質透過)性、可燃性という特徴が、その臨床応用に向けての障壁となっている。今回、これら H₂の利点を生かし欠点を補う新たな Drug Delivery System として、臓器保存後(移植直前)に 飽和濃度以下の水素含有液を体外で臓器に直接注入する HyFACS (Hydrogen Flush After Cold Storage) 法を考案し、移植肝 IRI に対する保護効果を検証した。</p> <p>【方法】</p> <p>水素含有生理食塩水は、安価、容易、無菌的に作成可能な“非破壊水素含有法”を用いて作成した。雄性 Wistar ラットより全肝を摘出、単純冷保存(UW 液、4℃、24 時間)後に以下の 4 群に割付した。</p> <p>① 対照群: 門脈(PV)、動脈(HA)双方から溶媒(生理食塩水)30mL 注入</p> <p>② HyFACS-PV: 門脈より HyFACS (H₂濃度 1.0ppm, 30mL)、動脈より溶媒 30mL 注入</p> <p>③ HyFACS-HA: 門脈より溶媒、動脈より HyFACS</p> <p>④ HyFACS-PV+HA: 動脈、門脈双方から HyFACS</p> <p>続いて、体外酸素化再灌流法(37℃、2 時間)により、各群での移植肝の健全性を比較・検討した。なお参照目的に、</p> <p>⑤ Sham 群: 冷保存なしで 同様の体外再灌流にて評価、を供した。</p> <p>【結果】</p> <p>全ての HyFACS 処置群において、再灌流後の肝逸脱酵素値、HMGB-1 値、再灌流中の門脈圧は有意に低下した。また HyFACS によるミトコンドリア逸脱酵素 GLDH 値の減少と電顕像でのミトコンドリア形態の改善が示され、結果的に再灌流後の肝組織中 ATP 量は有意に増加した。一方、類洞内皮機能を表すヒアルロン酸クリアランスは HyFACS-PV 群で有意に改善し、電顕像では類洞内皮の健全性が維持されていた。また胆汁産生量、及び胆管障害の指標である胆汁中 LDH 逸脱は HyFACS-HA 群で共に有意に改善し、電顕観察、CEACAM-1 免疫染色にて毛細胆管微絨毛の有意な保護効果を認めた。これら HyFACS による保護機構として、再</p>			

<p>灌流後の酸化傷害の有意な低減(TBARS、8-OHdG)と抗酸化能(GSH/GSSG 比)の改善が確認された。</p> <p>【考察】</p> <p>HyFACS 法は、水素の優れた抗酸化作用により投与経路依存的に IRI を抑制し、依然世界標準である単純冷保存後の臓器傷害を有意に改善した。その安全性、簡易性、経済性を鑑みれば、本法は臓器移植における新たな治療戦略になり得ると考えられる。</p>
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>肝移植を含む臓器移植において、虚血/再灌流傷害の制御は重要な課題である。今回申請者は、ラット摘出肝と体外灌流装置を用いて、移植肝冷保存後の体外水素灌流法(HyFACS)による、虚血/再灌流傷害の抑制効果について検討を行った。また経門脈、経肝動脈、経門脈+肝動脈の3群で、投与経路による効能の差異を比較検討した。</p> <p>全ての HyFACS 群において、肝酵素逸脱、HMGB-1 放出の抑制と、門脈灌流圧の低下を認めた。また、HyFACS 法により肝細胞ミトコンドリア傷害は有意に軽減され、肝組織中 ATP 濃度が維持された。投与経路に注目した検討では、経門脈投与群において、ヒアルロン酸クリアランスの上昇、類洞内皮細胞の健全性維持を認めた。一方、経肝動脈投与群では、胆汁産生量の増加、胆汁中 LDH 逸脱の抑制、電子顕微鏡及び免疫染色にて毛細胆管の健全性維持が確認された。以上より HyFACS 法は、経門脈的投与では類洞内皮を、経肝動脈投与では肝内胆管を 投与経路依存的に保護することが示唆された。また、全ての HyFACS 群において酸化傷害の抑制、及び抗酸化能の改善を認め、保護効果の発現には分子状水素の抗酸化作用が寄与していると考えられた。</p> <p>本法の安全性、簡易性、経済性を鑑みれば、臓器移植における虚血/再灌流傷害の克服に向けた新たな治療戦略の一つとなる可能性が示された。</p> <p>以上の研究は、臓器移植における虚血/再灌流障害の解明と分子状水素の治療応用の開発に貢献し、肝移植成績の改善に寄与するところが多い。</p> <p>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。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成30年12月28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。</p>
<p>要旨公開可能日: 年 月 日以降</p>