

京都大学	博士（医 学）	氏 名	岡 本 俊 宏
論文題目	Successful Sub-zero Non-freezing Preservation of Rat Lungs at −2°C Utilizing a New Supercooling Technology （ラット肺における過冷却技術を用いた−2°Cでの臓器保存法の検討）		
（論文内容の要旨）			
本論文は、過冷却技術を用いた氷点下-2°Cでのラット肺冷保存が、従来の 4°Cによる冷保存に比べて、良好な臓器機能を維持することを、ラット肺 ex vivo モデルを用いて示したものである。 臓器保存には、虚血状態の臓器機能を維持するため、通常 4°Cによる冷保存が行われているが、より低温での保存が可能になれば、さらに良好な機能維持が期待できる。これまでに零度以下の低温での保存を試みた研究の報告があるが、組織の凍結は重大な傷害を来すため、これらの研究では、細胞毒性がある凍結防止剤を添加してこれを防いでいる。凝固点以下の過冷却状態の液体は、極めて不安定であり、僅かな刺激がきっかけとなって容易に凍結するため、凍結防止剤を使用せずに安定した過冷却状態を維持することは困難であった。しかし、近年、水分子に電場を負荷することにより 0°Cから-10°Cの温度帯において安定した過冷却状態を維持する技術が開発された。この方法では毒性がある凍結防止剤などの添加の必要がない。 本研究では、この新しい技術を用いて、ラット肺 ex vivo モデルにおいて、Fresh 群（冷保存なし、n = 7）、Control 群（4°C、17 時間冷保存、n = 7）、Supercooling 群（−2°C、17 時間冷保存、n=7）の 3 群を設定し、ハーベスト、冷保存の後に、60 分間の再灌流を行ない、15 分毎に肺生理パラメーターを測定した。灌流液には希釈血液を使用し、臓器保存液としては ET-Kyoto 液を使用した。Supercooling 群にもちいた過冷却冷蔵庫では 3000 V の電圧にて電場負荷を行った。肺動脈圧（p<0.02）、酸素化能（p<0.001）、肺重量変化（p<0.001）、換気量（p = 0.001）、シャント率（p = 0.001）のすべてのパラメーターにおいて、これまでの標準的な臓器保存法を反映した Control 群と比べて、有意に Supercooling 群が良好な成績を示した。病理学的検討では Control 群において肺動脈の血管内皮細胞に高度の空胞化がみられたのに対して、Supercooling 群では、わずかな空胞化がみられただけであった。また再灌流後の肺内 ATP レベルを HPLC 法にて測定したところ、Supercooling 群（4.48 ± 0.51 nmol/mg dw）では、Control 群（3.49 ± 0.52 nmol/mg dw）に比べて有意に高値であった（p = 0.008）。本研究における Control 群の肺生理データ、病理像、および ATP 値の異常は、すべて、虚血再灌流傷害に起因すると考えられるのに対して、Supercooling 群では、軽度の肺動脈圧上昇とわずかな血管内皮傷害のみであり、過冷却保存が虚血再灌流傷害を著明に抑制していると結論づけることができる。過冷却技術をもちいた臓器保存法により、臓器冷保存時間の延長や、良好な臓器機能の維持を期待できる可能性がある。			

（論文審査の結果の要旨） 本論文は、過冷却技術を用いた-2°Cでのラット肺冷保存が、4°Cに比べて、良好な臓器機能を維持することを、ラット肺 ex vivo モデルを用いて示したものである。 臓器保存には、虚血状態の臓器機能を維持するため、通常 4°Cによる冷保存が行われているが、より低温での保存が可能になれば、さらに良好な機能維持が期待できる。実際に零度以下の低温での保存を試みた研究の報告があるが、組織の凍結は重大な傷害を来すため、細胞毒性がある凍結防止剤を添加してこれを防いでいる。水溶液の凝固点以下の過冷却状態は、不安定で僅かな刺激で凍結するため、安定した過冷却状態の維持は困難であった。しかし、近年、凍結防止剤を必要とせず、水分子への電場を負荷することにより 0°Cから-10°Cの温度帯にて安定した過冷却状態を維持する技術が開発された。 本研究では、この新しい技術を用いて過冷却保存されたドナー肺をラット肺 ex vivo モデルにおいて、検討した結果、肺動脈圧、酸素化能、肺重量変化、換気量、シャント率のパラメーターにて、4°Cと比べて、有意に過冷却保存が良好な成績を示した。また、病理学的検討では 4°Cで血管内皮細胞の傷害がみられたのに対して、過冷却保存ではほぼ正常であった。また再灌流後の肺内 ATP 値は、過冷却群で有意に高値であった。これらは、過冷却保存が虚血再灌流傷害を著明に抑制し、臓器機能を温存することを示している。 以上の研究は、過冷却技術をもちいた肺臓器冷保存法の有用性の解明に貢献し、新たな臓器保存法の探索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みとめる。 なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 2 月 12 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			