

## 学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	石井 大介
<p>学位論文題目</p> <p>Beneficial effects of end-ischemic oxygenated machine perfusion preservation for split-liver transplantation in recovering graft function and reducing ischemia-reperfusion injury (過小肝グラフトに対する短時間低温酸素化灌流保存の有効性の検討)</p> <p>共著者名</p> <p>松野直徒, 合地美香子, 岩田浩義, 庄中達也, 西川祐司, 小原弘道, 横尾英樹, 古川博之</p> <p>Scientific Reports 2021 Nov19;11(1):22608. doi:10.1038/s41598-021-01467-0 令和3年11月 掲載</p> <p>研究目的</p> <p>移植に用いる臓器の保存方法は、単純冷却法と灌流保存法がある。現在のわが国における臓器移植の現場ではその簡便さから単純冷却法による保存方法が主流となっている。一方、世界的にドナー不足は深刻であり、その対策としてドナープールの拡大の方向となり近年、高齢者ドナーなどのexpandedCriteria donor (ECD)や心停止ドナー(donors after cardiac death : DCD)などのいわゆるマージナルドナーが普及した。しかしながら、ECDやDCDからの移植では移植後の虚血再灌流障害が高率に発生し、長期予後に影響する。そのため、移植前のバイアビリティ判定という客観的な評価基準を可能にしつつ、臓器機能維持・回復の期待できる灌流保存法に大きな期待が集まっている。しかしながら臓器灌流保存法の至適灌流温度や至適灌流時間には議論の余地がある。</p> <p>分割肝移植はドナープールを広げる一つの方法であるが、分割に伴う損傷および過小グラフトになる可能性からマージナルドナーグラフトであることを我々は前研究で示した。今回、過小肝グラフトに対する短時間低温酸素化灌流保存の有効性を検討した。</p>			

(1)

## 材 料 ・ 方 法

ブタ肝臓を温阻血時間10分で摘出し、体外で75%肝切除を施行し、25%肝過小グラフトを作成した。過小グラフトに対して単純冷却保存8時間を行った群と、単純冷却保存6時間の後に低温酸素化灌流保存2時間を行った群を、それぞれ自己血を用いた恒温体外循環2時間を施行し、再灌流(移植後を模擬)し2群の比較を行った。低温酸素化灌流保存には企業と共同開発した国内初の灌流保存装置を用いて、灌流圧は門脈5mmHg、肝動脈50mmHgを目標とし、灌流液はUW液を使用し、酸素投与は40% 2L/minを設定した。

## 成 績

機械灌流保存中、門脈圧8-10mmHg、肝動脈圧30-50mmHgと安定して流量が制御可能であり、温度も4-6℃と安定していた。またASTなどの逸脱酵素の上昇は認めなかった。

再灌流2時間での灌流液中AST、ALP、LDH、Kは、灌流保存群で有意に低値であった。またC O H b も灌流保存群で低い傾向があり、組織中ATPは灌流保存群で全肝レベルまで改善していた。病理学的検討では再灌流障害評価であるSuzuki' s scoreが、灌流保存群で有意に低値であり、また免疫染色においてもERG染色(内皮細胞傷害のマーカー)、CD42b染色(血小板凝集のマーカー)ともに灌流保存群で有意に良好な結果であった。さらに肝組織におけるPCR検査においてTNF  $\alpha$ 、IFN  $\gamma$ 、IL-1  $\beta$ 、IL-10が再灌流2時間の時点で灌流保存群で有意に低値であった。

## 考 案

低温酸素化灌流保存の効果として、①内皮細胞効果(Kurppel-like factor発現低下の抑制、ずり応力による内皮細胞保護因子の発言上昇)、②肝細胞効果(DAMPsの低下)、③ミトコンドリア効果(コハク酸蓄積の抑制、ATPの再不可)、④細胞保護効果(ROSの低下、抗酸化酵素および生存蛋白の活性化)などが挙げられており、それらの相互作用で肝類洞での微小循環不全を改善させ、再灌流障害が低減されると考えられている。本研究の結果も低温酸素化灌流保存の効果と矛盾ない結果であり、支持する結果であった。

## 結 論

肝過小グラフトに対する短時間低温酸素化灌流保存は、再灌流障害を低減し、グラフト機能改善に寄与し、有効な保存法であると考えられた。

### 引 用 文 献

Ishii, D. et al. Applicability of hypothermic oxygenate machine perfusion preservation for split-liver transplantation in a porcine model: An experimental study. *Ann. Transpl.* 14, e919920 (2020).

Schlegel, A., Rougemont, O., Graf, R., Dutkowski, P. & Clavien, P. A. Protective mechanisms of endischemic cold machine perfusion in DCD liver grafts. *J. Hepatol.* 58, 278–286 (2013).

### 参 考 论 文

Yoshikawa, R. et al. Evaluation using an isolated reperfusion model for porcine liver donated after cardiac death preserved with oxygenated hypothermic machine perfusion. *Ann. Transpl.* 23, 822–827 (2018).

Patrono, D. et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion of liver grafts from brain-dead donors. *Sci. Rep.* 9, 9337 (2019).

Mabrut, J. Y. et al. Ex vivo liver splitting and hypothermic oxygenated machine perfusion: technical refinements of a promising preservation strategy in split liver transplantation. *Transplantation* 105(2021), 89–90 (2021).

## 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏名	石井 大介
		審査委員長	奥村利勝 
		審査委員	東 信良 
		審査委員	林 利彦 
学位論文題目			
Beneficial effects of end-ischemic oxygenated machine perfusion preservation for split-liver transplantation in recovering graft function and reducing ischemia-reperfusion injury			
( 分割過小肝グラフトに対する短時間低温酸素化灌流保存法の有効性 -グラフト機能回復と虚血再灌流障害低減-の検討 )			
掲載雑誌: Sci Rep 2021 11: 22608			

(審査評価・結果のみとし、800字以内で提出すること。)

世界的にドナー不足は深刻であり、ドナープールの拡大が必要である。分割肝移植はドナープールを広げる一つの方法であるが、分割に伴う損傷および過小グラフトになる可能性からマージナルドナーグラフトであることを我々は前研究で示した。今回、分割過小肝グラフトに対する短時間低温酸素化灌流保存の有効性を検討した。ブタ肝臓を温阻血時間 10 分で摘出し、体外で 75%肝切除を施行し、25%肝過小グラフトを作成した。過小グラフトに対して単純冷却保存 8 時間を行った群と、単純冷却保存 6 時間の後に低温酸素化灌流保存 2 時間を行った群を、それぞれ自己血を用いた恒温体外循環 2 時間を施行し、再灌流(移植後を模擬)し 2 群の比較を行った。再灌流 2 時間での灌流液中 AST、ALP、LDH、K は、灌流保存群で有意に低値であった。また COHb も灌流保存群で低い傾向があり、組織中 ATP は灌流保存群で全肝レベルまで改善していた。病理学的検討では再灌流障害評価である Suzuki' s score が、灌流保存群で有意に低値であり、また免疫染色においても ERG 染色(内皮細胞傷害のマーカー)、CD42b 染色(血小板凝集のマーカー)ともに灌流保存群で有意に良好な結果であった。さらに肝組織における PCR 検査において TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10 が再灌流 2 時間の時点で灌流保存群で有意に低値であった。低温酸素化灌流保存は①内皮細胞効果、②肝細胞効果、③ミトコンドリア効果、④細胞保護効果の相互作用で肝類洞での微小循環不全を改善させ、再灌流障害が低減されると考えられており、本研究の結果も矛盾しない結果であった。分割過小肝グラフトに対する短時間低温酸素化灌流保存は、再灌流障害を低減し、グラフト機能改善に寄与し、有効な保存法であると考えられた。今後の特に小児肝臓移植の分野で臨床応用が期待される。得られた内容は明快で、その医学的意義も高く、既に専門誌に公表されている。申請者の関連領域の知識も十分で、学位論文にふさわしいと判断した。