



Title	Expanded Criteria Donor 肝グラフトに対する機械灌流法の至適条件の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	坂本, 聡大
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15894号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/92067
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	SAKAMOTO_Sodai_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 坂本 聡大

	主査	教授	坂本 直哉
審査担当者	副査	准教授	七戸 俊明
	副査	准教授	岩永 ひろみ

学位論文題名

Expanded Criteria Donor 肝グラフトに対する機械灌流法の至適条件の検討
(Exploration of the Optimal Conditions in Hypothermic Machine Perfusion for Liver Grafts Retrieved from Circulatory Death)

申請者は、ラットの心停止肝モデルに対して灌流装置を用いて低温機械灌流による修復、引き続き常温灌流装置による再灌流評価を行い、心停止肝に対する低温機械灌流の至適条件の検討を行った。低温機械灌流は虚血再灌流の抑制効果を示し、その効果増強の要因として水素ガスや灌流液の pH 管理の重要性を示した。また、温度が変動しても至適 pH を維持する新規灌流液 FJH を作成し、その有効性を報告し機序としてミトコンドリアの微細構造や電子伝達複合体の保護効果を示した。

審査にあたり、まず副査の岩永准教授から HE 染色で肝表面の傷害が指摘されていたが灌流実験中に肝表面の温度管理や乾燥対策はどのように行ったのかという質問があり、申請者は低温機械灌流中は灌流液内に漬けることで、常温の再灌流中は自作のヘアドライヤを用いた実験ボックスで 37℃の温度管理・湿度 100%を維持する方法を用いたと回答した。次に TUNEL 染色の陽性細胞の割合の結果を提示していたが TUNEL 陽性細胞の判定はどのように行ったのかという質問があり、申請者は肝細胞内の核が円形で一様に茶褐色に染色された肝細胞を TUNEL 陽性と判定したと回答した。また、本実験系ではオスミウム浸軟走査電子顕微鏡所見よりも透過電子顕微鏡の方が Mitophagy などの定量評価に適していると指摘があり、申請者は今後の研究の参考にすると返答した。

次に副査の七戸診療教授から学位論文内に肝末梢領域との記載があったが、肝表面なのか、血流支配における抹消なのか明確でないと指摘があり、申請者に組織学的部位の定義について学位論文の適切な修正を求めた。次に新規灌流液 FJH の特許申請状況や今後の臨床応用について質問があり、申請者は教室内で特許取得を試みたが現時点では難しい状況であり今後は動物実験による肝移植の追加実験が必要であると回答した。また、FJH の詳細について論文内で記載しないのであればその理由を記載するよう指摘し、申請者にその旨を論文に追記するよう求めた。次に水素ガスを加えた際の灌流液の pH 変化や先行実験と若干異なる結果が出たことについて質問があり、申請者は水素分子は解離定数が低く溶解して電離しないため pH は変動しないことと、先行実験とは実験形態が異なるため違う結果が出ていると回答した。次に pH 調整時に投与する NaOH によって Na 濃度の変化が実験に影響を与える可能性について質問があり、申請者は灌流液中の Na 濃度の変動は小さく実験への影響は軽微であると回答した。次に学位論文内に比喩的な表現があるため訂正が必要であると指摘があり、申請者は適切に修正すると返答した。

最後に主査坂本から新規灌流液と既存の灌流液とのどのような違いが有効であったのか

質問し、申請者はバッファの配合により温度が変化しても至適 pH が安定して維持されることであると回答した。また、特許の関係により情報が全て開示できないのであればその旨を論文に記載するよう再度指摘し、申請者は追記すると返答した。次に電子顕微鏡のミトコンドリア所見について定量化して測定することはできないかとの質問に対し、申請者は共同研究者とも相談したが定量化は困難であったと回答した。定量化には走査電子顕微鏡よりも透過電子顕微鏡が望ましいのではないかとの指摘に対し、申請者は今後の研究の参考にすると返答した。次に国内では心停止肝の肝移植は行われず国外では臨床研究が行われているとのことだが本研究の結果がどのような意義を持つかとの質問に対し、申請者は本研究を含めて低温機械灌流の至適条件が検索されることで、世界的に心停止肝を用いた肝移植の成績が向上し、日本での心停止肝を用いた肝移植が認可され臨床利用につながることを期待していると回答した。最後に水素ガスが有効である機序についての質問に対し、申請者は水素ガスについて既報で報告されている mTOR や PI3K などの経路に作用してアポトーシスを抑制効果が機械灌流中でも有効であった可能性があるかと回答した。

本論文は心停止肝グラフトに対して低温機械灌流の水素ガスの有効性や灌流液の pH 管理の重要性を示し、低温機械灌流による虚血再灌流傷害抑制効果を増強する可能性を示した点において高く評価され、今後の肝移植における心停止肝の利用の増加や提供臓器不足解消に寄与することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。