

## 保存グループ



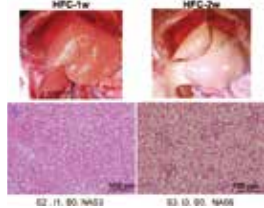
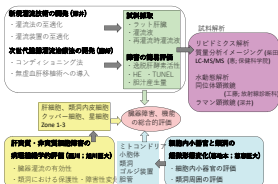
深井 原 (特任講師)

臓器移植における非標準的ドナー臓器の修復法、冷保存再灌流傷害の軽減法を探索している。2023年度は専従の大学院生 (MD) なし。坂本聡大は学位審査会に向けて準備中である (Sakamoto 2023 JCM)。柴田賢吾は採取済のラット肝臓検体を用いて解析した (Shibata 2023 JCM)。客員研究員の藤好真人、有志の藤好直が小動物肝移植、灌流の方法、術式を探索している。

2022年度まで研究していた学生の中村恒星は卒業し、動物実験の継続は困難になった。2023年度から大学院修士課程の本井慧路が配属された同年度前半には保健学科検査技術専攻の4年生、染谷星吾、山田知可子の卒業研究の指導を委託され、臓器保存のin vitro研究を進めてもらった。

2023年度は引き続き、1) 重水含有液によるmarginal 肝グラフトの修復法の開発、2) グラフト機能および障害の予測マーカー探索、3) エネルギー代謝と生存シグナルの制御法、4) 脂肪肝モデル、5) 脂肪肝の冷保存後低温酸素化灌流、を検討した。

SHRSP5-Dmcrラットに高脂肪高コレステロール (HFC) 食を給餌し、2週でNASHの初期像が得られ、脂肪肝の程度をMRIで判定できた (Fukai 2023 Transplant Proc)。オスミウム浸軟SEM法による冷保存ラット肝の評価法、灌流液・肝組織メタボローム解析、同位体顕微鏡を用いた肝組織内の水の動態の可視化、ラマン顕微鏡を用いた肝組織内の代謝物解析、肝リゾリン脂質のLC-MS/MS定量のための抽出法の至適化、等を同時に進め、興味深い知見を得た。



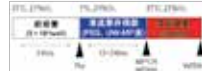
本井 慧路 (2023年卒)

## 臓器冷保存一灌流における至適pHの検討

今年度から研究に従事させて頂いております。研究テーマは「臓器冷保存一灌流における至適pHの検討」です。脳死ドナー不足による移植待機中の患者死亡の解決法として、心停止・脂肪肝などの拡大基準ドナー (ECD : Expanded Criteria Donor) の利用が挙げられます。従来の単純冷保存 (CS : Cold Storage) ではECDの安全な利用が困難なため、機械灌流 (MP : Machine Perfusion) による臓器保存・修復が期待されています。低温酸素化灌流 (HOPE : Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion) は代謝抑制、老廃物除去、pH維持、エネルギー源補給、好気代謝により臓器修復を目指す方法です。しかし、低温下での酸素補給はミトコンドリア障害、小胞体ストレス、酸化ストレスを介して細胞死を促進する場合もあり、対象臓器の選別や灌流時の諸条件の至適化が必要です。当教室では、移植後の再灌流を模倣した単離ラット肝灌流 (IPRL : Isolated Perfused Rat Liver) モデルを用いて、新規臓器保存・灌流液、灌流中や再灌流時の治療法を検討してきました。先行研究では、IPRLによる7℃の至適灌流pHが示唆されました (Sakamoto et al. 2023 JCM)。本研究では、低温灌流における至適灌流pHをラット肝細胞株 (RL-34)、ラット星細胞株 (RI-T) などを用いた細胞実験で検証し、灌流時のpHが肝細胞に与える影響を明らかにしていきたいと思っております。また、至適灌流pH下での薬剤投与による臓器保護効果が増強するか否かを検証予定です。恵まれた環境で研究ができることに感謝し、深井先生のご指導の下、精一杯頑張っていきたいと思っております。

### 実験方法

- 細胞株 : RL-34 (ラット肝実質細胞), RI-T (ラット肝星細胞)
- 培養条件 : 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>
- 培地 : DMEM/F12 (10% FBS, pH7.4)
- 保存条件 : 7 °C, 21% O<sub>2</sub>, 12-24h
- 評価 : 冷保存前後と復温後3時間 (WR3h) のATP量、死細胞率、viability



RI-T 7°C 12h 低温灌流モデル in PBS

