

脱細胞化肝臓を鋳型とした肝グラフトの性能評価系 および臓器培養システムの開発

坂本, 裕希

<https://hdl.handle.net/2324/2236199>

出版情報 : 九州大学, 2018, 博士 (工学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 坂本 裕希

論 文 名 : 脱細胞化肝臓を鋳型とした肝グラフトの性能評価系
および臓器培養システムの開発

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

重篤な肝不全に陥ってしまった場合の根治療法は依然として肝移植のみであるが、慢性的なドナー不足が問題である。本問題の根本的な解決のために、ドナー肝臓の代替となる移植可能な肝グラフトの開発が望まれている。肝臓の構築のためには良好な物質移動を実現するための血管の再現が重要である。近年、肝臓の細胞成分を除去することによって得られる脱細胞化肝臓を細胞の足場とし、移植用の肝グラフトの構築を目指す研究が我々を含む一部の研究者により行われている。脱細胞化肝臓は肝臓本来の精緻な構造を維持していることが報告されており、微細構造の構築に非常に有用であると考えられる。この脱細胞化肝臓に対して血管内皮細胞や肝実質細胞等を播種し、移植用肝グラフトとして再細胞化肝臓を構築することによって、肝移植におけるドナー不足の解決が期待されている。

脱細胞化肝臓を用いて肝グラフトの構築を目指す既往研究において、構築された再細胞化肝臓のほとんどが *in vitro* で評価されている。しかしながら、肝不全からの救命のための指標は未だ不明であり、*in vitro* では再細胞化肝臓の救命効果を評価することは不可能である。つまり、実際に肝不全動物に対して適用することによって再細胞化肝臓の有効性を評価することが可能となる。そこで本研究では、肝不全ラットモデルを開発し、本モデルに血液体外循環によって再細胞化肝臓を適用する新たな *ex vivo* 評価系の開発を行い、再細胞化肝臓の現状の有効性を評価した。また、肝不全からの救命を実現可能な再細胞化肝臓の構築を目指し、細胞密度の増大を実現するための灌流培養システムの基盤技術を開発した。

第 1 章では、肝不全における治療の現状や本研究の必要性を述べた。また、本研究の方針及び本論文の構成を述べた。

第 2 章では、肝臓の形態や機能、肝不全の病態やその治療の現状について述べた。また、移植用肝グラフトの構築に向けた既往の報告についても述べた。

第 3 章では、再細胞化肝臓の有効性評価に適した純粋な肝不全ラットモデルの開発を目指した。既往の肝不全モデルはいずれも肝臓のみならず全身障害を惹起するため、純粋な肝不全モデルであるとは言い難い。本研究では、温虚血と 80%部分肝切除を行うことによって肝不全ラットモデルを開発した。更に、既往の温虚血モデルにおいて危惧される温虚血中の循環障害による他臓器への影響を低減するために、右葉のみに対して温虚血を行い温虚血中の循環障害を防止した。本手法によって作製された肝不全ラットモデルは、虚血時間の延長に伴って生存率の低下および肝特異的機能の低下が確認され、虚血時間による重篤度の制御が可能であった。また、術後 6 時間で肝性昏睡発症レベルの肝不全を再現良く誘導できていることが示唆された。更に、既往の温虚血肝不全モデルで問題となっていた温虚血中の循環障害を防止できた事も確認され、純粋な肝不全モデルである事が期待された。

第4章では、研究では新たな評価系として、再細胞化肝臓を組み込んだ血液体外循環を肝不全動物に対して行うことで、再細胞化肝臓の有効性を評価することを目指した。回路間のヘッド差の低減、再細胞化肝臓や循環血液の温度管理、循環回路体積の低減、回路のヘパリン処理による血栓形成の防止等を行うことによって、肝不全ラットモデルに対する肝臓を組み込んだ血液体外循環システムを開発した。まず、*in vitro* 評価で再細胞化肝臓のアンモニア代謝能を確認した。続いて、肝不全ラットモデルに対して再細胞化肝臓を血液体外循環によって適用し、その肝不全に対する有効性を評価したところ、肝不全ラットモデルの血中アンモニアをも代謝可能であることが確認された。以上の結果から、開発した血液体外循環システムによって、再細胞化肝臓の肝不全に対する有効性を評価することが可能であった。また、再細胞化肝臓が肝不全動物に対しても有効であることが示された。しかしながら、肝不全からの救命は現段階では実現できておらず、更なる細胞数の増加の必要性が示された。

第5章では、再細胞化肝臓の細胞数の増加による高密度化を目指し、十分な酸素供給を行える酸素富化装置を灌流培養回路に組み込んだ再細胞化肝臓の培養システムを構築した。まず、中空糸を用いて酸素富化装置を開発し、酸素供給能を評価した。静脈血を酸素富化装置に流通させたところ血液の酸素飽和度は約99%に上昇した。また本装置を組み込んだ灌流培養システムは正常肝臓の酸素消費速度を満たす酸素移動容量係数を有していることが示された。さらに、本システムで正常肝臓の培養を行ったところ12時間の灌流培養に成功し、高密度化した再細胞化肝臓が培養可能であることが示された。

第6章では、本論文のまとめを行い、今後の展望を述べた。

〔作成要領〕

1. 用紙はA4判上質紙を使用すること。
2. 原則として、文字サイズ10.5ポイントとする。
3. 左右2センチ，上下2.5センチ程度をあげ，ページ数は記入しないこと。
4. 要旨は2,000字程度にまとめること。
(英文の場合は，2ページ以内にまとめること。)
5. 図表・図式等は随意に使用のこと。
6. ワードプロ浄書すること（手書きする場合は楷書体）。
この様式で提出された書類は，「九州大学博士学位論文内容の要旨及び審査結果の要旨」
の原稿として写真印刷するので，鮮明な原稿をクリップ止めで提出すること。