

## 平成25年度 傾斜的研究費（全学分） 研究報告書

【研究費区分】：全学分 学長裁量枠 新規領域創成型

【研究代表者所属】：理工学研究科 機械工学専攻

【研究代表者氏名】：水沼 博

【研究代表者氏名フリガナ】：ミズヌマ ヒロシ

【研究代表者職】：教授

【国内研究分担者（所属,氏名,職）】

首都大学東京 理工学研究科・機械工学専攻	小原 弘道	助教
首都大学東京 人間健康科学研究科放射線科学域	関根 紀夫	准教授
首都大学東京 人間健康科学研究科放射線科学域	沼野 智一	准教授
国立成育医療研究センター臨床研究センター	絵野沢 伸	室長
国立成育医療研究センター臨床研究センター	松野 直徒	特別研究員

【国外研究分担者（所属,氏名,職）】

・該当無し

【研究課題名】：医工連携に基づく肝臓灌流機能の解明と再生医療への応用

【研究実績の概要（600～800字程度で記入。図、グラフ等の使用も可。）】

・再生医療への応用をふまえた次世代移植技術医療技術の確立・高度化に向けた医工連携に基づく肝臓灌流機能の解明の研究により下記の成果が得られた。

- (a) 移植医療ならびに再生医療に重要となる肝臓灌流機能評価可能な全肝臓解析モデルを構築・完成させた。全肝臓モデルは血管構造情報を用いた数値流体解析と肝小葉を含む肝臓組織を多孔質として表現したモデルを組み合わせたハイブリッド解析モデルであり、肝臓に関する解析に重要な流量分布や圧力分布などを評価可能である。完成したモデルを用い、今後の臨床への展開利用に向けた生体肝移植やがん摘出切除なので重要となる臓器分割時の流動特性評価など基礎的な評価もおこなった。さらに、微小血管網構造抽出詳細構造抽出可能な放射光計測を用いて肝小葉をつなぐ微小血管構造に着目し、全肝臓灌流モデルのための血管網計測を行った。本モデルによって、心停止後の肝臓内流動態変化の再現や、臓器灌流装置開発のための流動・酸素供給最適化、脱細胞化再生臓器構築のため、肝細胞移植のみならず薬剤代謝評価などで広く利用される臓器からの肝細胞の分離のための灌流条件評価など幅広い分野への展開が期待される。
- (b) 移植医療の拡大のために、単純冷却保存にかわる技術として臓器内に細胞保護成分や栄養成分、酸素などを持続的に供給する灌流保存法が注目されている。本研究では、肝臓に着目し、従来は移植の難しい条件である心臓停止後摘出臓器などの機能を回復し、機能評価可能な次世代型移植用肝臓灌流保

存装置開発の開発をおこなった。当該年度では、前年度に確立した復温灌流保存法をさらに効果的なものとするために臓器灌流時の酸素消費・供給に着目し研究開発を行った。具体的には、肝動脈のみならず門脈からも積極的に酸素化した保存液を供給できる回路系を開発し、ブタ動物実験により、心停止後1時間の臓器を移植可能とするべく研究を行った。臨床用のプロトタイプに向けた復温対応臓器灌流保存装置を完成させ、臨床研究用装置に向けて検討を行った。具体的には、国内での心停止ドナーを想定した、心停止後1時間のブタ臓器を用い、流動特性情報、酸素消費量、逸脱酵素やmRNAの発現量などにより評価をおこなった。これらの成果はヒトでの臨床研究用装置の開発のみならず、細胞から組織から臓器を形成するための再生医療研究の基盤技術となるものであり、大いに期待される。

- (c) 細胞移植確立のための流動下での肝細胞の機能・特性評価として、分離時、注入移植時における肝細胞機能に与える流動の影響を評価した。国内初の肝細胞移植治療が国立成育医療研究センター（連携研究機関）で実施されこれらの臨床への貢献が求められている。当該年度は、臨床で利用される細管・カテーテルにおけるせん断付加特性を模擬した管内流負荷実験、一定の剪断を付与可能でありせん断負荷時間の管理可能な回円板せん断負荷実験、細胞分離時に利用されるメッシュを想定したメッシュ分離実験を行い、細胞の生存率変化ならびにその形態評価、新生児治療に重要となるアンモニア代謝性能評価実験を行った。細胞移植の高度化に向けた成果のみならず、再生医療成果を臨床に橋渡しするために重要な知見を得た。

#### 【学会発表（発表題目、発表大会名、年月を記入）】

##### [学会発表]

1. 独自に開発した臓器灌流型保存装置による移植臓器機能再生の研究,日本医工学治療学会講演会,2014.03
2. 移植医療への理解と共感を広めるためのNPOの役割,日本臨床腎移植学会総会,2014.03
3. 開発中の持続灌流保存回復システムによるブタ腎保存の研究,日本臨床腎移植学会総会,2014.03
4. 臓器移植と再生医療基盤技術の確立のための臓器体外灌流システムの開発と評価,バイオエンジニアリング講演会,2014.01
5. 臓器移植・細胞移植医療高度化のための混相流,混相流フォーラム,2013.12
6. 細管内を通過する肝実質細胞への流体力学的負荷の影響,臓器保存生物医学会総会講演会,2013.11
7. 肝臓灌流保存における酸素供給の検討,臓器保存生物医学会総会講演会,2013.11
8. 肝細胞移植における門脈輸注細胞の体内動態に関する検討,日本移植学会総会,2013.09

##### [学会発表(国際会議)]

1. Rewarming to subnormothermia for DCD liver graft with machine perfusion preservation in pigs, Congress of International Society for Organ Donation and Procurement, 2013.11
2. Development of Machine perfusion System for Liver Transplantation, the 13th Design Engineering Workshop, 2013.11
3. Oxygenation during Rewarming Machine Perfusion for Pig Liver Preservation, The 5th Congress of the International Federation for Artificial Organs (IFAO2013), 2013.09
4. Optimal Flow and Temperature Conditions of Rewarming Machine Perfusion for Liver Transplantation, the 13th Congress of the Asian Society of Transplantation, 2013.09
5. Rewarming preservation by organ perfusion system for porcine DCD liver graft, the 13th Congress of the Asian Society of Transplantation, 2013.09

6. Examination of posttransplantational distribution of hepatocytes injected from portal Vein ,the 13th Congress of the Asian Society of Transplantation ,2013.09
7. Effects of stretching flow on hepatocyte viability for cell transplantation,12th Congress of the Cell Transplant Society(CTS2013),2013.07
8. Effect of shear stress on survival of isolated hepatocytes for cell transplantation,12th Congress of the Cell Transplant Society(CTS2013),2013.07
9. Estimation of portal embolization and extra-hepatic leakage after hepatocyte transplantation in piglets and rats,The International Liver Transplantation Society,2013.06

[招待講演]

1. 移植医療・再生医療のための臓器機能回復を目的とした灌流保存装置の開発, 水沼博, 第3回 TOBIRA 研究交流フォーラム
2. Transplantation Engineering for Liver Disease, Hiromichi OBARA, 2nd “MONOZUKURI” Workshop (hosted by the ASME JAPAN), 2013.09

【論文発表又は著書発行（発表題目，著者，発表誌又は出版社，年月を記入）】

1. Improvement of infusion process in cell transplantation: Effect of shear stress on hepatocyte viability under horizontal and vertical syringe orientation, Sandi Sufiandi<sup>1</sup>, Hiromichi Obara, Shin Enosawa, Huai-Che Hsu, Naoto Matsuno, Hiroshi Mizunuma, Cell Medicine,2014 (Accepted)
2. Rewarming Machine Perfusion System for Liver Transplantation, Hiromichi Obara, Naoto Matsuno, Takanobu Shigeta, Shin Enosawa, Toshihiko Hirano, Hiroshi Mizunuma TRANSACTIONS OF THE ASME Journal of Medical Device ( 2013) Vol. 7, 041011.
3. Experimental nonalcoholic steatohepatitis induced by neonatal streptozotocin injection and a high-fat diet in rats, Hsu Huai-Che , Dozen Masaharu, Matsuno Naoto, Obara Hiromichi, Tanaka Ryou, Enosawa Shin, Cell Medicine, Vol. 6, pp. 57-62. (2013)
4. Temperature controlled machine perfusion system for liver, Hiromichi Obara, Naoto Matsuno, Takanobu Shigeta, Toshihiko Hirano, Shin Enosawa, Hiroshi Mizunuma, Transplantation Proc., 45 (5) (2013), pp. 1690-1692.
5. Impact of rewarming preservation by continuous machine perfusion: Improved post-transplant recovery in pigs", Takanobu Shigeta, Naoto Matsuno, Hiromichi Obara, Hiroyuki Kanazawa Hideaki Tanaka, Akinori Fukuda Seisuke Sakamoto, Hiroshi Mizunuma, Shin Enosawa, Transplantation Proc 45 (5) , pp. 1684-1689. (2013)

[関連著書]

Marginal Donors: Current and Future Status, Fukushima N, Kenmochi T, **Matsuno N**,103-122, Springer,Tokyo,2013

CHAPTER11: DCD for Liver Transplantation 研究分担者・編集・執筆 本研究成果紹介

**【科学研究費補助金への応募状況、採択状況】**

- ・ [採択状況]
- ・ 文部科学省科学研究費補助金（基盤（B））（研究分担者：松野直徒） 500 千円  
「医工薬学連携によるマージナルドナーに対応する新しい臓器保存方法の開発」
- ・ 文部科学省科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究申請（研究代表：水沼 博） 400 千円  
「肝臓組織再生に向けた肝細胞灌流抽出の流動学的研究」 24, 25 年度

**[応募状況]**

- ・ 厚生労働省科学研究費補助金 申請 医療機器開発推進研究事業  
(研究代表者：小原弘道 36000 千円（新規）  
「移植医療の活性化を目指した肝臓・腎臓対応臓器灌流機能回復システムの開発」  
分担研究機関：旭川医科大，国立成育医療研究センター，東京薬科大
- ・ 文部科学省科学研究費補助金（基盤（B））（研究代表：松野直徒） 19960 千円  
「マージナルドナー肝に対する灌流型機能保存・再生システムの医薬工学横断的研究」

**【国等の提案公募型研究費，企業からの受託研究費・共同研究費の獲得状況】**

- ・ 財団法人 御器谷科学技術財団 研究助成金 1000 千円  
「移植医療拡大を目指した臓器のゆりかごのための機械灌流システムの開発」

**【その他社会貢献】****[公的審議会・委員会等の公的貢献，生涯学習支援・普及啓発，国際貢献・国際交流等]**

- ・ 産技研研究成果発表会 講演・発表（6月21日）東京都産業技術センター
- ・ 都市科学連携機構 第5回施策提案発表会（ポスタ）7月31日 都庁

**【研究成果による特許等の工業所有権の出願・取得状況】**

(工業所有権の名称,発明者,権利者,工業所有権の種類・番号,出願年月日,取得年月日)

- ・ 当該年度該当無.

**【研究分担額】**

(研究代表者・分担者名,所属,金額(円))

- ・ 水沼博・小原弘道，理工学研究科 機械工学専攻，8000 千円
- ・ 関根紀夫・沼野智一，健康福祉学部，2000 千円