

審査の結果の要旨

氏名 柳谷 昌弘

本研究は大動物であるブタモデルにおいて、レシピエント由来の細胞と脱細胞化技術を用いて肺臓器再生を試み、その再生肺臓器の左片肺移植の実行性と再生肺臓器の *in vivo* での機能について検証したものである。本研究を遂行するにあたって、大きく分けて4つの検討を行った。下記のような結果を得ている。

1. ドデシル硫酸ナトリウムならびに Triton X-100 を肺動脈に灌流し肺の脱細胞化を試みた。組織染色や DNA 定量評価で、ドデシル硫酸ナトリウムならびに Triton X-100 の灌流は肺グラフトの細胞を除去することが示された。さらにドデシル硫酸ナトリウムならびに Triton X-100 の灌流前に気管支内への生理食塩水注入を行うことで細胞成分をより除去することも示された。
2. レシピエントブタに対して肺部分切除を行い、自家細胞の分離培養を試みた。約 100-1000mg の肺組織から気道上皮細胞ならびに血管内皮細胞を分離し、3 週間の培養期間を経て、約 10^5 - 10^6 個の細胞を得ることを示した。フローサイトメトリーや免疫染色で目的とする自家細胞を得たことが確認された。
3. 脱細胞化された肺スキャフォールドに自家細胞を配置して培養を行い、再生肺を構築した。本検討では血管内皮細胞を 2 日間、気道上皮細胞を 1 日間かけて培養した。培養後の肺組織の中で細胞の存在を確認した。
4. 自家細胞で再細胞化した肺を左片肺移植した。本検討ではコントロール群として、他家のドナーブタからの左片肺移植である同種他家肺移植、ならびに脱細胞化されただけの肺スキャフォールドを左片肺移植した脱細胞肺移植も行った。結果は、再生肺移植 3 例ならびに同種他家肺移植 3 例は全例移植後 4 時間以上生存した。脱細胞肺移植は 2 例行ったが、移植後 30 分以内に死亡した。移植後 4 時間の期間で、再生肺移植の移植肺の酸素ガス交換能は同種他家肺移植の酸素ガス交換能と遜色なかった。しかし移植後 4 時間の時点で二酸化炭素ガス交換能においては、再生肺移植は同種他家肺移植に比して低い傾向にあった。さらに再生肺移植は再換気直後から顕著な嚢胞性変化をきたすことが明らかになった。再生肺移植においてみられた二酸化炭素ガス交換能の不良や嚢胞性変化は、肺の脱細胞化過程における細胞外マトリックスたんぱく質の一種であるエラスチンの喪失が一因として考えられた。

以上、本論文は部分切除で得たレシピエント由来の自家細胞をもとに、脱細胞化技術を応用して構築した再生肺の左片肺移植の実行性と機能を示した。本検討で得られた再生肺

は嚢胞性変化や二酸化炭素ガス交換能不良といった結果をもたらしたが、今後の肺再生研究を行う上での課題を明確に提示した。肺再生研究に大きな貢献をなすと考える。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。