
[O-025] ルシフェラーゼラット肝を用いた生体外灌流における ATP 評価システムの構築

○石川 潤^{1,2,3}, 大原 正行^{1,2,3}, 虎井 真司¹, 吉本 周平¹, 笠松 寛央¹, 木村 貴弘¹, 灘原 壮一¹, 袴田 陽二², 小林 英司^{2,3,4}

(1.株式会社 SCREENホールディングス, 2.日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医保健看護学科, 3.慶應義塾大学 医学部 臓器再生医学寄附講座, 4.東京慈恵会医科大学 産学連携講座 腎臓再生医学講座)

【目的】臓器充足率の改善に向けた心停止後ドナー (DCD) 臓器の利用が進められており、心停止後の ATP 枯渇に伴う重篤な臓器障害が移植利用における課題とされている。ルシフェリン-ルシフェラーゼ発光システムは、臓器内の ATP を可視化できることから、先に小林らは世界に先駆け LucTg ラットを誕生させ、移植再生領域の研究に供与してきた。我々は産学共同研究により本システムを用いて心停止臓器の移植利用拡大に対する研究システムを推進しており、臓器内の ATP 量を可視化することにより、生体外灌流による蘇生効果をリアルタイムに評価可能な系を構築した。

【方法】生体ラットから採取したヘパリン化全血を用いて、温虚血時間を 60～180 分に設定した Luc ラットの肝臓を生体外において灌流した。生体外灌流中はルシフェリンを経時的に灌流液へ投与することにより、臓器内の ATP 量を可視化し、灌流に伴う ATP の再合成量を評価した。

【成績】新鮮ラット肝臓を用いて全血を灌流液とした疑似生体灌流系では 4 時間の灌流において好気呼吸が維持されており、乳酸や糖代謝、胆汁産生能が機能していることが示された。この生体外灌流系を用いてラット DCD 肝臓の生体外灌流を行った結果、温虚血時間を 60 分に設定した肝臓は生体外灌流により ATP の再合成が認められた。一方 120 分、180 分に設定した肝臓においては灌流中の ATP 量はおよそ半分程度に低下しており、現状の全血を用いた灌流による ATP の再合成は認められなかった。

【結論】生体外灌流中の臓器内 ATP 量を可視化することにより、非侵襲的に経時的な解析ができる評価系を構築したことにより、灌流中のエネルギー合成過程を定量的に評価することが可能となった。今後は DCD 臓器の状態を改善させるための薬剤スクリーニングや ATP 量を指標とした移植可否判断基準の設定等に利用できることが期待される。
