

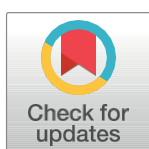
研究論文

水素吸蔵合金キャニスターからの溶存水素ガスを含む臓器保存液はミニチュアブタにおける移植虚血腎臓の機能を改善する

小林栄次^{1,2,3}、佐野元昭^{*、1,3}

1 慶應義塾大学医学部循環器内科、2 慶應義塾大学医学部臓器機能開発学講座、3 慶應義塾大学分子状水素医学研究センター

* msano@a8.keio.jp



要旨

ティブ・コモンズ表示ライセンスの条件の下で配布されたオープンアクセス記事であり、原著者と出典のクレジットがあることを条件に、いかなる媒体においても無制限の使用、配布、複製が許可されている。

データの利用可能性に関する声明: すべての関連データは論文およびそのSupporting Informationファイル内にある。

オープンアクセス

引用 Kobayashi E, Sano M (2019) 水素吸蔵合金キャニスターからの溶存水素ガスを含む臓器保存液は、ミニチュアブタにおける移植虚血腎臓の機能を改善する。PLoS ONE 14 (10): e0222863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863>

編集者 南野徹、新潟大学、日本

受領 2019年5月29日

受理された 2019年9月9日

掲載 2019年10月1日

査読の歴史 PLOSは、査読プロセスの透明性の利点を認識しています。そのため、査読の内容および著者の回答のすべてを、最終的な出版論文と一緒に公開することを可能にしています。この論文の編集履歴はこちらでご覧いただけます:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863>

Copyright: © 2019 小林、佐野.これはクリエイティブ

水素ガスを臓器保存液に溶解させる方法としては、水素ガスボンベの使用、電気分解、水素発生剤の使用など様々な方法が考案されている。しかし、これらの方法は準備に多大な時間と労力を要する。

我々は、水素吸蔵合金を含むキャニスターを用いて、臓器保存液に水素ガスを迅速に溶解させる実用的な技術について検討した。この方法で作成した水素ガス含有臓器保存液の有効性を、循環停止ドナーからの腎移植のミニチュアブタモデルで試験した。水素ガスの溶解に要した時間はわずか2~3分であった。冷ETK臓器保存液を入れたバッグに0.06MPaの圧力で水素ガスを注入し、その後バッグを大気開放したところ、溶存水素濃度は1.0mg/L以上を4時間維持した。30分間の循環停止により温熱虚血傷害を誘発した後、ドナー腎臓を摘出し、水素含有冷ETK液または水素非含有冷ETK液で5分間灌流した。灌流速度は、水素非含有ETK溶液よりも水素含有冷ETK溶液のほうが初期段階から速かった。移植前に腎臓を水素非含有保存液に1時間保存した後、術後6日目の犠牲時に尿の産生は観察されず、移

植腎に血流は検出されなかった。一方、水素を含む保存液で1時間または4時間保存すると、膀胱から尿が検出され、移植腎では血流が確認された。臓器保存液に水素ガスを溶解させるこの方法は、損傷した臓器を移植可能な臓器に変換する可能性のある実用的な技術であり、ドナーから臓器を摘出するあらゆる臨床現場で安全に使用できる。

資金提供本研究は、株式会社ドクターズマン（小林英二氏へ）より資金提供を受けた。（小林英治氏へ）。この資金提供者は、研究デザイン、データ収集と解析、発表の決定、原稿の作成には関与していない。

競合利益：小林英二は株式会社ドクターズマンより研究助成を受けた。慶應義塾大学と株式会社ドクターズマンは共同で特許を出願しています（特許第2019-081425号）。小林英二と佐野元昭は本特許の発明者です。このことは、データや資料の共有に関するPLOS ONEのポリシーの遵守を変更するものではありません。

はじめに

循環停止後のドナーからの辺縁臓器の移植は、レシピエントの待機期間を短縮するための重要な選択肢である。希釈したドナー血液によるドナー臓器の灌流は進歩しているが[1]、ドナーが見つかる可能性のある多くの現場で容易に使用できる方法はほとんどない。

水素ガスは、動物実験において虚血再灌流障害の抑制など、さまざまな生物学的効果を示すことが示されている[2-5]。虚血再灌流傷害は固形臓器移植の避けられない合併症であり、この種の傷害を抑制することは移植片の生存率を高めることができる。水素ガスの使用は、小腸[6-7]、肺[8-14]、肝臓[15-18]、心臓[19、20]、骨軟部組織[21]、腎臓[22]など、さまざまな臓器の移植モデルで有効であることが報告されている。摘出した臓器を、ドナーおよび/またはレシピエントが水素ガスを吸入することなく、生体外で水素ガスに曝露することは可能であり、水素ガスポンペの使用[6]、電気分解[18、20、21、22]、水素発生剤[17]など、臓器保存液に水素ガスを溶解させるさまざまな方法が考案されている。

しかし、これらの方法は、かさばる装置と危険な高圧ポンペを必要とし、取り扱いには厳しい規制があるため、準備にかなりの時間と労力を費やす必要がある。したがって、このような方法（）を臨床現場に導入しようとするのは非現実的であろう。したがって、臓器保存液に水素ガスを迅速に溶解させる簡単な技術が求められている。

水素吸蔵合金は、冷却または加圧されると水素を吸収し、加熱または減圧されると水素を放出する化合物である。水素吸蔵合金のキャニスターには、このような合金が充填されており、燃料電池の水素供給に利用されてきた。われわれは、水素吸蔵合金キャニスターを用いて、臓器保存液に水素を迅速かつ簡便に高濃度で溶解させる方法を開発した。水素を貯蔵したキャニスターはどこにでも安全に持ち運ぶことができ、従来の臓器保存液が入ったバッグに簡単に接続できるため、ドナーの臓器摘出現場で数分以内に水素を臓器保存液に溶解させることができる。

本研究では、この方法で溶解した水素を含む低温臓器保存液の有効性と安全性を、循環停止ドナーからの腎移植モデルであるミニチュアブタを用いて検証した。これまでの研究は幼若な家畜ブタを用いたものであったが、我々はより臨床に近い環境を反映させるためにミニチュアブタを用いた[23]。30分間の循環停止後、ドナーから腎臓を摘出し、洗浄後、水素ガス含有臓器保存液または通常の臓器保存液のいずれかで保存した。その後、移植後の早期腎機能を2つの保存方法で比較した。

ミニブタ

従来、腎移植に関する動物実験は、幼若な家畜ブタ（約4ヵ月齢）を用いて行われてきた。しかし、本研究では、ドナーおよびレシピエントを成体のミニチュアブタとした。これは、この方がより臨床現場に近いと考えられたからである。ミニチュアブタは2年後に成長しても体重は30Kgを超えない。フジミクラ（静岡県静岡市）から購入した生後25～40ヵ月、体重20～26Kgの雌ブタを使用した。動物は英国の1986年動物（科学的手順）保護法に従って扱われた。ブタは温度と光を制御した条件（12時間の明暗サイクル）でケージに収容し、餌と

水を自由に飲めるようにした。ブタは手術の12時間前から絶食させ、水は自由に飲ませた。ミダゾラム/メドミジン/ブトルファノールの混合薬による鎮静の後、気管内挿管と機械的換気を行った。麻酔は吸入イソフルランで維持した。ミダゾラムとメドミジンは麻酔深度に応じて追加した。

術中鎮痛管理としてブプレノルフィンを投与した。ペントバルビタール静脈内投与後、飽和塩化カリウムを速やかに静脈内投与し安楽死させた。水素含有臓器保存液のフラッシング効果を調べるために3匹、臓器移植実験に9匹を使用した（1セットの実験にドナー1匹、レシピエント2匹を使用）；

n = 3)。これらの実験は、慶應義塾大学研究評議会・動物実験委員会の承認を得て実施された〔承認番号：16072-(1)〕。手術は、臨床移植手術を200例以上経験した外科医が執刀した。

移植学会の理事であり、日本移植学会の常任理事でもある（E.K.）。

水素吸蔵合金キャニスターを用いた水素ガス溶解システム

水素吸蔵合金キャニスター（日本製鋼所製）は、水素を可逆的に吸蔵・放出する水素吸蔵合金を収納したボンベである（図1A）。キャニスターの内圧は1MPaを超えないため、高圧ガス保安法上の高圧ガスには該当しない。使用直前に水素導入装置を組み立て、圧力調整弁を介して水素吸蔵合金製キャニスターから臓器保存液に水素を注入した（図1B、1C）。ゲージ圧が0.06 Mpaに達した時点で、臓器保存液の入ったプラスチックバッグを圧力調整バルブから外した。手動で30秒以上激しく振とうした後、臓器保存液の入ったバッグを氷上に置き、大気開放した。その後、溶液中の水素ガス濃度をガスクロマトグラフィー（TRIllyzer mBA-3000; 太陽（株）、高知県）で経時的に測定した。

循環停止ドナーブタからの腎臓洗浄に対する水素含有保存液の有効性の検討

全身麻酔下で正中上腹部を切開し、左右の腎臓を剥離した。次に開胸し、胸部大動脈をクランプして全腹部臓器の虚血を誘導した。30分間の温虚血後、腎臓をドナー臓器として使用するために摘出した。ドナー動物にはヘパリンなどの抗凝固剤は投与しなかった。摘出した腎臓は直ちにバックテーブル上に置き、左右の腎臓に分け、1mの高さから重力送りにより5分間灌流した。

片方の腎臓を水素を含む冷たい細胞外型トレハロース含有京都（ETK）溶液で灌流し

、もう片方を水素を含まない冷たいETK溶液で灌流した。それぞれの腎臓について、1分あたりの溶液の滴下数を数えた。

腎移植モデルでの評価

水素含有冷ETK溶液または水素非含有冷ETK溶液で5分間洗浄した後、採取した腎臓を同じETK溶液に浸し、レシピエントへの移植まで1~4時間保存した。

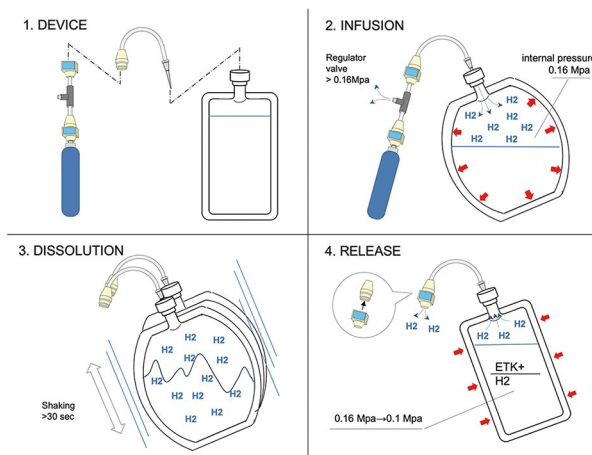
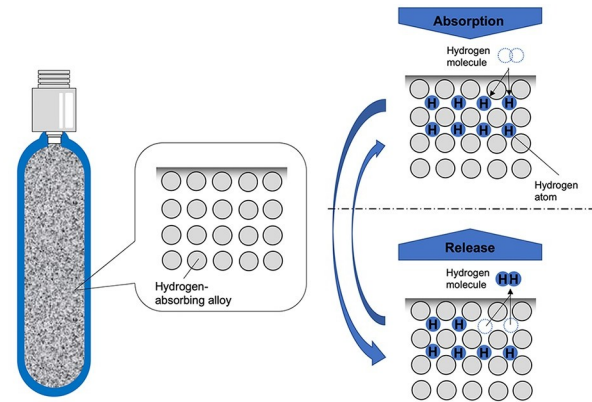


図1.水素吸蔵合金キャニスターを用いた臓器保存液への水素ガス溶解法。(A) 水素吸蔵合金のメカニズム。(B) 水素吸蔵合金キャニスターを用いた臓器保存液への水素ガス溶解プロセス。(1) 臓器保存液バッグに水素吸蔵合金キャニスターと圧力調整弁を接続する。(2)水素ガスをゴム栓から注射針で注入する。圧力が0.06Mpaになったら、臓器保存液バッグを圧力調整弁と水素吸蔵合金キャニスターから外す。(3) ビニール袋の中の臓器保存液を手で30秒以上激しく振る。(4) 袋を大気開放する。(C) 臓器保存液に水素ガスを注入する装置の構成要素。

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863.g001>

全身麻酔下、腹部正中線を切開し、レシピエントの左腎動脈と静脈を露出させた[24]。ヘパリン1mlを静脈内投与した後、腎動脈分岐部直上で腹部大動脈をクランプした。次に腎静脈をブルドッグ鉗子でクランプし、左腎を腎動脈からカレルパッチ状に残して切除した。次に、保存ドナー腎をCarrelパッチ部位の腎動脈に5-0ナイロンで端から端まで吻合した。動脈吻合後、腹部大動脈をクランプ解除する前に末梢腎動脈を再度クリップした。総大動脈クランプ時間は30分であった。その後、腎静脈を6-0ナイロンで端から端まで連続吻合し、最後に尿管を6-0ナイロンの結び目縫合で吻合した。移植腎は保温バッグに包まれ、適切な冷ETK溶液の注入により、温度が20°C以下に保たれた[25]。温虚血時間は1時間とした。再灌流後、経人工腎臓の血流を確認した。その後、右の移植腎を摘出し、腹部を閉鎖した。術後1日目にセファゾリンナトリウム（25mg/kg）を投与し、動物には餌も水も自由に摂取させた。動物は術後6日まで観察され、その後、実験室検査、尿検査、移植腎の病理組織学的検査のために犠牲にされた。血中尿素窒素（BUN）とクレアチニン（CRE）は、それぞれ末梢血と尿検体でウレアーゼ-GLDH法と酵素法により測定した。尿中総蛋白はピロガロールレッド法で、尿中電解質（ Na^+ ）はイオン選択電極法で測定し、無機リン酸（IP）は酵素法で、グルコースはヘキソキナーゼ/グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ法で測定した。移植腎は10%中性緩衝ホルムアルデヒド溶液（ H^+ ）で固定し、皮質を中心に乳頭を含むように長手方向に切断した。通常の方法で包埋後、薄切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（H.E.）染色とエラスチカ・ファン・ギーン（EVG）染色を行った。組織学的検査は盲検化された病理医によって行われ、腎移植片の病理学的状態はBanff分類 [26, 27] に従って評価された。

結果

臓器保存液中の水素濃度プロファイル

水素ガス注入に要した時間は2~3分であった。水素ガス注入後の3種類の臓器保存液の水素濃度の変化を図2に示す。同じ圧力では、UW溶液とHTK溶液はETK溶液よりも水素濃度が高かった。水素濃度は、常圧下で4°Cでは非常に緩やかに減少し、4時間後にはすべての溶液で1 mg/L以上となった。ETK溶液は腎臓の保存に厳密な温度管理を必要としないため[28, 29]、以後この溶液を用いてドナー腎臓の洗浄と保存に関する実験を行った。

水素含有臓器保存液のフラッシング効果

我々が開発した水素ガス注入法で生成した低温水素含有ETK溶液の有効性を評価するために、限界ドナー臓器の移植を行った。臨床の移植環境をより忠実に反映させるため、ミニチュアブタ（25～40ヶ月齢）を用いた。30分間の循環停止により温熱虚血傷害を生じた後、ドナー腎臓を採取し、水素含有冷ETK溶液または水素非含有冷ETK溶液で5分間灌流した（[図3A](#)）。水素含有冷ETK溶液を用いた場合、水素非含有ETK溶液を用いた場合よりも、灌流の初期段階から灌流速度が速かった（[表1](#)）。灌流終了時の目視検査では、灌流は

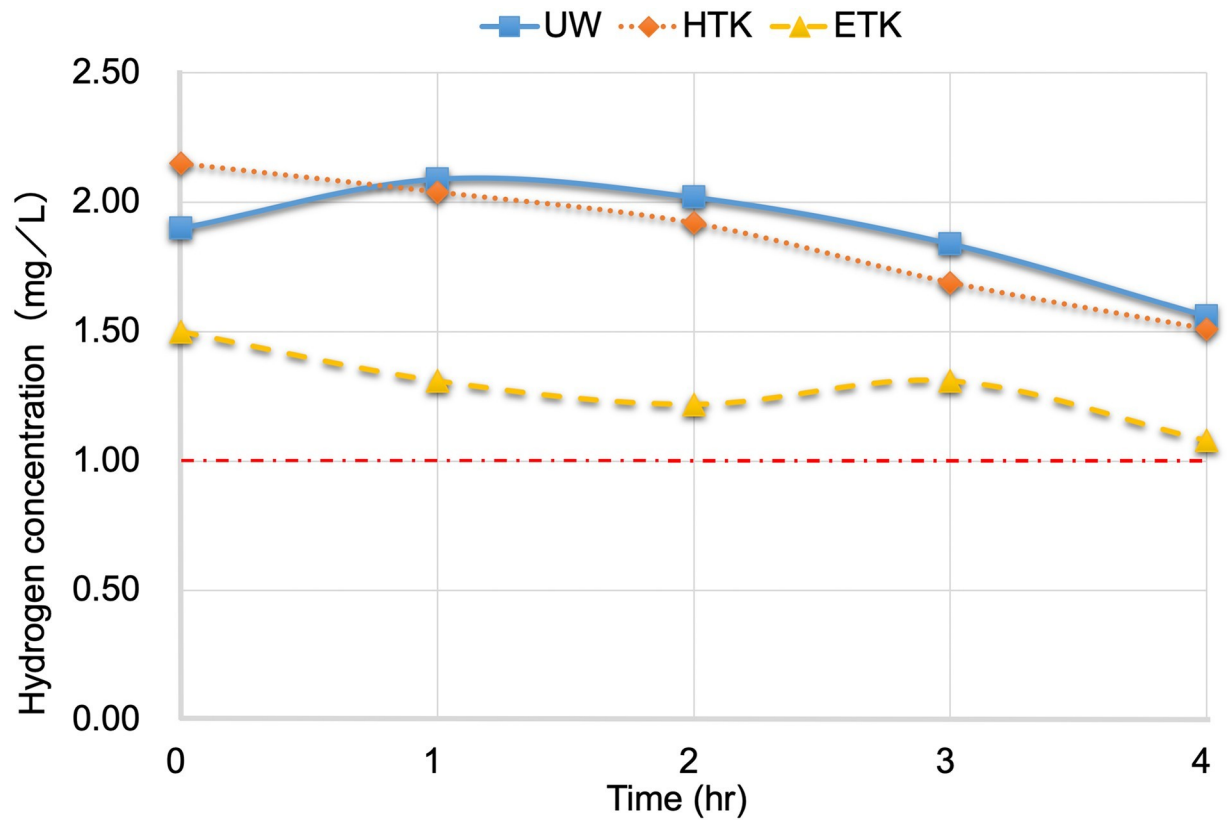


図2.水素ガス注入後の大気圧下における臓器保存液 (UW、HTK、ETK) 中の水素濃度の変化。

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863.g002>

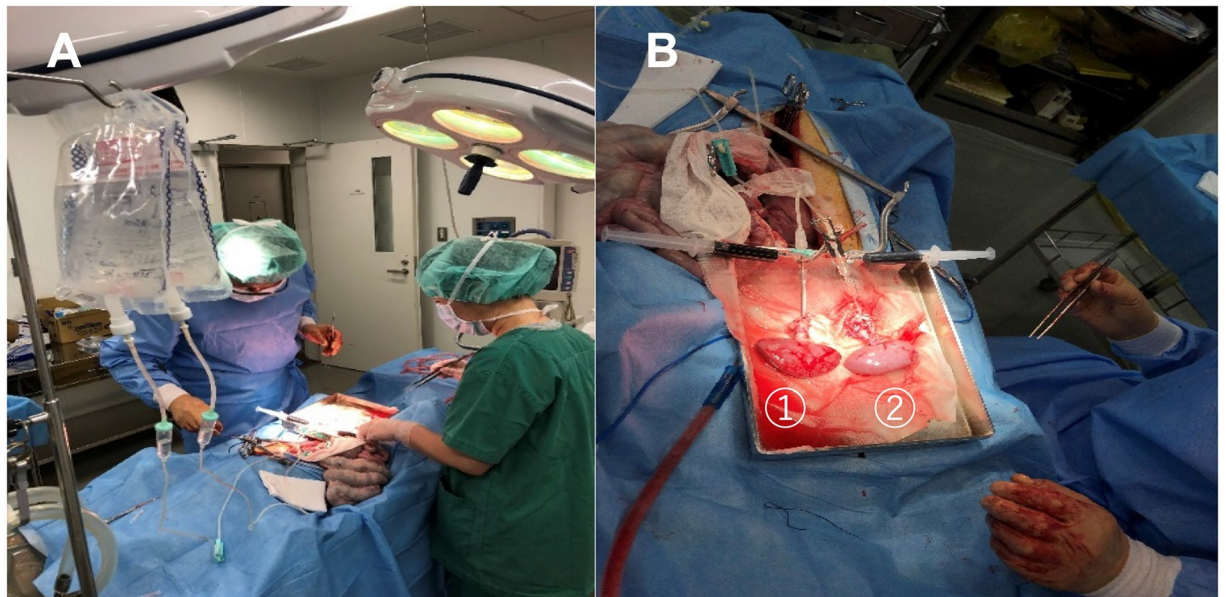


図3.水素含有ETK溶液による腎臓洗浄の効果。A. 腎臓を重力送り (1 m) で5分間灌流した。水素含有ETK溶液および水素非含有ETK溶液で各1腎臓を灌流した。B. 1) 水素含有ETK溶液で灌流した腎臓、2) 水素非含有ETK溶液で灌流した腎臓。

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863.g003>

表1.重力送りによるETK溶液の灌流速度 (1m)。

時間 (分)	実験1					実験2				
	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5
水素含有ETK溶液	71	71	81	88	89	137	139	146	150	168
水素フリー-ETK溶液	60	63	68	68	73	78	78	83	85	88

灌流速度は1分あたりの滴数で示す。

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863.t001>

水素含有ETK溶液は、水素を含まないETK溶液よりも効果的であった (図3B)。

水素含有ETK溶液で保存した腎臓と水素含有ETK溶液なしで保存した腎臓の移植後早期評価

レシピエントのミニブタはすべて観察期間終了まで生存した。移植前の腎臓を水素ガスを含まない保存液中で1時間保存した後、術後6日目の犠牲時に膀胱内に尿は観察されず、移植腎臓に血流は検出されなかった (表2)。一方、水素ガス含有保存液で1時間または4時間保存した腎臓では、術後6日目に移植腎に血流が検出され、膀胱に尿が認められた。水素ガスを含まないETK溶液で1時間保存した腎臓を移植した後、レシピエントのBUNおよびクレアチニンの血中濃度は、それぞれ270±29.5mg/dLおよび4.72±2.72mg/dLであった (n=3)。水素含有ETK溶液中で1時間保存した腎臓1個を移植した後のBUNおよびクレアチニンの血中濃度は、それぞれ83mg/dLおよび4.4mg/dLであった (n=1)。したがって、移植前の腎臓の保存時間を延長した水素含有ETK溶液群の残り2匹のブタでは、4時間であった。保存時間が長かったにもかかわらず、これら2匹のうち1匹の犠牲時のBUNとクレアチニンの血中濃度は低く、それぞれ108mg/dLと8.2mg/dLであった。

病理組織学的所見を図4に示す。水素を含まないETK溶液投与群では、3つの腎臓すべてに広範な皮質壊死 (汎壊死) が認められた。水素ガス含有ETK溶液投与群では、急性組織傷害が認められたが、皮質壊死は認められなかった。低倍率では尿管の拡張と細胞浸潤が、高倍率では糸球体に単核球の浸潤と毛細血管の閉塞が観察された。単核球とリンパ球の浸潤も糸球体で観察された。

表2.腎移植後6日目の検査データ。

グループ	保存時間 (時間)	血液					尿						
		BUN (mg/dL)	CRE (mg/dL)	U-TP (mg/dL)	国連 (mg/dL)	U-CRE (mg/dL)	U-Na (mEq/L)	ユーケー (mEq/L)	ユーシーアイ (mEq/L)	ユーアイピー (mg/dL)	U-GLU (mg/dL)		
水素フリー-ETK溶液	第1位	1	261	22.8									

水素含有ETK溶液	第2位	1	224	20.0	N.T							
	第3位	1	325	29.2	N.T							
	第1位	1	83	4.4	327.6	405.5	99.07	15	35.5	12	0.8	8
	第2位	4	108	8.2	41.0	682.5	81.28	23	30.6	13	44.2	1
	第3位	4	239	33.6	2491.0	290.1	51.11	89	39.9	75	17.9	61

N.T;未検査（膀胱内に尿がない）

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863.t002>

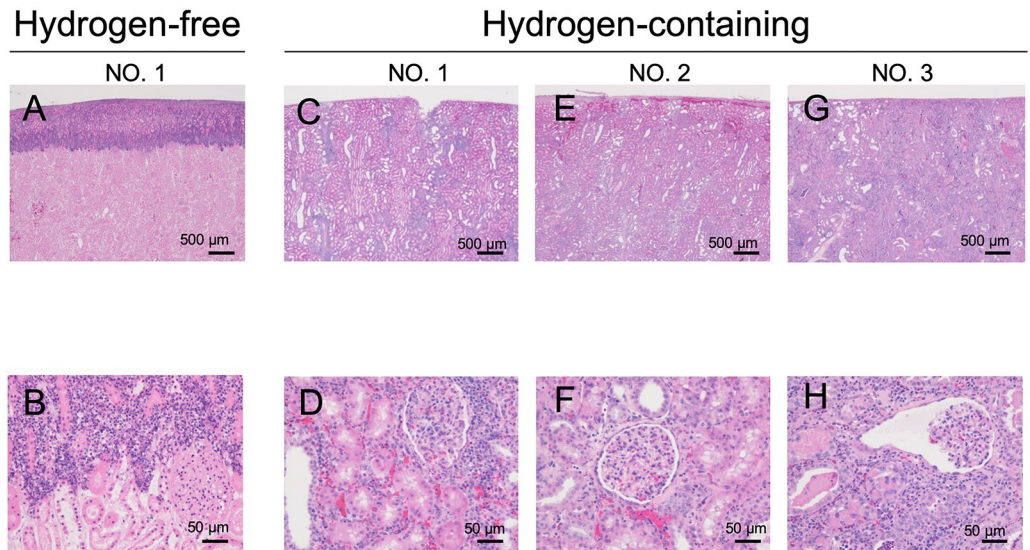


図4.移植後6日目の腎臓の組織学的所見。 標本番号は表2のものと同じ。A、C、E、G: 低倍率（40倍）、B、D、F、H: 高倍率（400倍）。(A,B) 水素を含まないETK溶液を用いて保存した腎臓は、顕微鏡野の大部分で広範な壊死を示し、皮質の汎壊死を示している。(C-H) 水素ガス含有ETK溶液を用いて保存した腎臓では、皮質の壊死は観察されなかった。しかし、尿細管拡張と間質性単核球浸潤は明らかである。

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863.g004>

尿細管間質領域。水素含有ETK溶液を用いて保存した移植腎の病理所見を表3にまとめた。

ディスカッション

本研究では、水素吸蔵合金製キャニスターから臓器保存液に水素ガスを迅速に注入し、水素含有臓器保存液を製造する方法を開発した。水素ガスの供給源が水素吸蔵合金製キャニスターであるため、ドナー臓器の摘出現場へ容易かつ安全に持ち込むことができ、緊急時にも速やかに臓器保存液に水素ガスを注入することができる。そして、水素を含んだ臓器保存液でドナー臓器を洗浄し、搬送中の臓器を保存することができる。冷えたETK臓器保存液を入れたバッグに水素ガスを0.06MPaの圧力で注入し、その後バッグを大気開放したところ、溶存水素濃度が1.0mg/L以上を4時間維持することを確認した。

水素ガスは虚血再灌流障害の予防に有効であることが示されているが [1-4]、水素ガスは高濃度では可燃性であり、安全性の問題から臨床での使用は制限されている。われわれが以前に行った医師主導の臨床試験では、冠動脈インターベンションと水素ガスの吸入を併用することで、心筋梗塞後の左室リモデリングを抑制できることが示された [30]。この臨床試験では、被験者は水素（1.3%）、酸素、窒素の混合ガスを

吸入した。しかし、臓器提供の現場で臓器保存液に水素を溶解させるために純水素ガスのポンペを使用することは困難と考えられる。

臓器保存液に水素を溶解させるこれまでの方法は、電気分解 [18, 20, 21, 22] によって水素を発生させるか、水素発生剤 [17] を用いて水素を発生させ、その後水素ガスを臓器保存液に受動拡散させるものであった。しかし、これらの方法は複雑であり、臨床使用には適さない。

表3.水素含有ETK溶液で保存した移植腎の詳細な病理組織所見。

所見/検体番号	1	2	3
皮質壊死	0	0	0
細胞の破片	0	0	0
急性拒絶反応	2	1	3
糸球体炎	3	1	2
糸球体血栓	0	0	1
血栓	0	0	2
間質性単核球浸潤	3	2	3
尿細管炎	3	2	3
内膜動脈炎	2	0	3
髄質の内膜動脈炎	0	3F ²⁾	0
慢性移植腎症	1	1	1
慢性移植糸球体障害、メサンギウム増殖症	2	1	2
間質性線維症	1	1	1
尿細管の萎縮と喪失	1	2	3
尿細管変性と壊死	0	1	2
尿細管拡張	2	2	3
尿細管再生	0	1	1
エラスチカの断片化を伴う線維性内膜肥厚	0	2	3
その他			
ヒアリン鑄型	1	2	3
細胞ギブス	1	1	2
好中球/好酸球浸潤	1	1	1
出血	1	1	1
鬱血、外側髄質	2	1	1

グレーディングシステム: 0: 変化なし、1: 軽度、2: 中等度、3: 重度。

F)フィブリノイド変化: 動脈または静脈における非特異的变化

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222863.t003>

溶液中の水素ガス濃度が1mg/Lに達するには24~48時間を要するからである。

ドナー腎臓の灌流に水素含有ETK溶液と水素非含有ETK溶液を比較したところ、前者の方が灌流開始からの流量が多かった。灌流された組織を調べたところ、毛細血管の拡張と微小血栓の洗浄が認められた。

本研究では、循環停止したドナーミニチュアブタから温熱虚血障害を有する腎臓を移植し、術後6日目までの短期観察を行った。水素ガスを含まない臓器保存液に腎臓を1時間保存した後に移植した場合、転帰は常に一次機能不全であった。これに対して、水素を含む溶液に4時間まで保存した後に移植を行うと、移植腎に血流が検出され、尿の産生が観察された。これらの結果は、我々の方法が、損傷した臓器を移植可能な臓器に修復するために臨床的に使用できる可能性を示唆している。

本研究のいくつかの限界を考慮すべきである。我々は術後急性期に焦点を当てたので、免疫抑制療法を受けているレシピエントの長期腎機能についても今後検討する必

要がある。さらに、水素ガス入り臓器保存液で処理した腎臓では、依然として重度の急性尿細管間質障害が発生した。しかし

水素を含む臓器保存液と術中洗浄 [31]、術中または術後の免疫抑制療法、あるいは間葉系間質細胞などの細胞を用いた補助細胞療法 [32, 33]を組み合わせることで、将来、使用できなかった限界ドナーからの腎臓を移植できるようになる可能性がある。

結論

結論として、われわれは、ドナー臓器の摘出現場で、臓器保存液に水素ガスを迅速に注入できる装置を開発した。水素ガス含有溶液による臓器の洗浄と保存は、限界ドナーからの移植の実行可能性を高める可能性がある。

サポート情報

S1ファイルNC3Rs ARRIVEガイドラインチェックリスト。
(PDF)

謝辞

この研究は、株式会社ドクターズマンからの助成金により行われた。(E.K.)の助成を受けた。臓器保存液に水素ガスを注入するシステムの考案には、橋本壮(株式会社ドクターズマン)が協力した。

著者の貢献

監修 佐野元昭。

執筆 - 原案: 小林英二、佐野元昭。

参考文献

1. Nasralla D, Coussios CC, Mergental H, Akhtar MZ, Butler AJ, Ceresa CDL; Consortium for Organ Preservation in Europe. 肝移植における常温保存の無作為化試験。Nature 2018; 557: 50-56. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0047-9> PMID: 29670285.
2. 水素は、細胞毒性酸素ラジカルを選択的に還元し、治療用抗酸化剤として働く。Nat Med.2007; 13: 688-694. <https://doi.org/10.1038/nm1577> pmid: 17486089
3. 水素ガス吸入による心筋虚血再灌流障害モデルラットにおける梗塞サイズの縮小。Biochem Biophys Res Commun.2008; 373: 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.05.165> pmid: 18541148
4. 心肺蘇生中の水素吸入は、体温管理とは無関係に心停止ラットの神経学的転帰を改善する。Circulation 2014; 130: 2173-2180. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.114.011848> pmid: 25366995
5. 水素ガス吸入はラット重症出血後のショックの「不可逆的」段階への進行を抑制する。J Trauma Acute Care Surg. 2017; 83: 469-475. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001620> PMID: 28640781

6. Buchholz BM, Kaczorowski DJ, Sugimoto R, Yang R, Wang Y, Billiar TR, et al. 水素吸入は、移植による腸移植片損傷における酸化ストレスを改善する。Am J Transplant.2008; 8: 2015-2024. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02359.x> pmid: 18727697
7. Buchholz BM, Masutani K, Kawamura T, Peng X, Toyoda Y, Billiar TR, et al. Hydrogen-enriched preservation protects the isogeneic intestinal graft and amendent gastric function during transplantation. Transplantation 2011; 92: 985-992 PMID: 21956195
8. 肺移植による虚血再灌流障害を予防するための吸入水素ガス療法（ラット）。Transplantation 2010; 90: 1344-1351. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181fe1357> PMID: 21048533

9. ドナーによる水素処理がラットの肺移植機能に及ぼす影響。Surgery 2011; 150: 240-249. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2011.05.019> PMID: 21801961
10. 水素吸入は脳死ドナーラットにおける肺移植片傷害を減少させる。J Heart Lung Transplant.2013; 32: 251-258. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2012.11.007> pmid: 23273744
11. 生体外肺灌流中の水素プレコンディショニングはラットの肺移植片の質を改善する。Transplantation 2014; 98: 499-506. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000254> pmid: 25121557
12. Haam S, Lee S, Paik HC, Park MS, Song JH, Lim BJ, et al. The effects of hydrogen gas inhalation during ex vivo lung perfusion on donor lungs obtained after cardiac death. Eur J Cardiothorac Surg. 2015; 48: 542-547. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezv057> PMID: 25750008
13. Meng C, Ma L, Niu L, Cui X, Liu J, Kang J, et al. ラットにおける一酸化炭素、水素、またはその両方による虚血再灌流障害に対する低温虚血設定でのドナー肺の膨張保護。Life Sci: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.03.015> pmid: 26969763.
14. Haam S, Lee JG, Paik HC, Park MS, Lim BJ. 心臓死後に回復したドナー肺の生体外肺灌流中の水素ガス吸入。J Heart Lung Transplant.2018; 37: 1271-1278. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2018.06.007> PMID: 30100327
15. 水素ガスによる肝再灌流障害は、単離灌流ラット肝の長期低温保存後に生じる。Artif Organs 2016; 40: 1128-1136. <https://doi.org/10.1111/aor.12710> PMID: 27140066
16. 石川哲也、嶋田聡、深井正樹、木村哲也、梅本和彦、柴田和彦、他。再灌流後水素ガス処理は、心臓死後のドナーからのラット肝臓における虚血再灌流障害を改善する：予備的研究。Surg Today 2018; 48: 1081-1088. <https://doi.org/10.1007/s00595-018-1693-0> PMID: 29980846
17. 玉木勇夫、秦浩一、岡村吉隆、ニグメット・ワイ、平尾裕之、久保田貴之、他：虚血再灌流障害に対する肝移植片の新たな生体外終末虚血療法としての低温保存後の水素フラッシュ。Liver Transpl. 2018; 24: 1589-1602. <https://doi.org/10.1002/lt.25326> PMID: 30120877
18. ラット肝移植における低温虚血再灌流障害に対する水素リッチ溶液の減弱効果。BMC Gastroenterol.2019; 19: 25. <https://doi.org/10.1186/s12876-019-0939-7> pmid: 30736744
19. HTK溶液の添加剤としての水素は、長時間の低温虚血を伴うグラフトにおける心筋の温存を強化する。Int J Cardiol.2013; 167:383-390. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2011.12.109> PMID: 22264873
20. 野田和彦、重村直樹、田中靖浩、川村哲也、Hyun Lim S、小久保和彦、他：水素リッチ水浴を用いた心臓移植片の新しいプレサービング法。J Heart Lung Transplant.2013; 32:241-250. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2012.11.004> pmid: 23273745
21. 水素を添加した保存液は骨軟骨移植片の生存率を改善する。Scientific World Journal 2014; 2014:109876. <https://doi.org/10.1155/2014/109876> PMID: 25506061
22. Hydrogen-rich University of Wisconsin solution attenuates renal cold ischemia-reperfusion injury. Transplantation 2012; 94: 14-21. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e318255f8be> PMID: 22683850
23. 細胞移植に用いられるブタモデルの年齢的妥当性。Cell Transplant.2019; 28: 224-228. <https://doi.org/10.1177/0963689718817477> pmid: 30525991.
24. 腎移植におけるサーマルバリアバッグを用いた温熱虚血の軽減：ブタによる検討。Transplant Proc. 2019; 51: 1442-1450 PMID: 31079942
25. 小林英樹、虎井誠一郎。移植腎の腹腔内冷却。Transplant Direct.2019; 5: e-438
26. Loupy A, Haas M, Solez K, Racusen L, Glotz D, Seron D, et al. バンフ2015年腎臓学会報告：拒絶反応の分類における現在の課題と分子病理学導入の展望。Am J Transplant.2017; 17: 28-41. <https://doi.org/10.1111/ajt.14107> pmid: 27862883.
27. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, et al. 腎移植片拒絶反応の組

織学的診断基準の国際標準化: Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int.* 1993; 44: 411-422. <https://doi.org/10.1038/ki.1993.259> PMID: 8377384

28. トレハロースを含む細胞外液による常温保存が心臓からのラット腎移植に与える影響

- 死亡ドナーPLoS One 2012; 7: e33157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033157> PMID: 22457739
29. 心臓死ドナーからの移植腎の運命を予測するためのラットにおける非侵襲的磁気共鳴画像法。PLoS One. 2013 May 7; 8(5):e63573 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063573> PMID: 23667641
 30. 勝俣泰彦、佐野文彦、阿部俊彦、田村俊彦、藤澤俊哉、白石康之、他：ST上昇型心筋梗塞に対する経皮的冠動脈インターベンション後の有害な左室リモデリングに対する水素ガスインハレーションの効果-ヒトを対象とした最初のパイロット試験。Circ J. 2017; 81: 940-947. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-17-0105> PMID: 28321000
 31. Wamser P, Asari R, Goetzinger P, Mayer G, Berlakovich G, Soliman T, et al. ブタ自家移植後の腎機能に対する管理された再灌流の有害な影響は、カロライナ洗浄液の使用により完全に補償される。Transpl Int. 2003; 16:191-196 PMID: 12664215
 32. 間葉系幹細胞の生体外投与がラット心臓死ドナーからの腎移植片の機能に及ぼす影響。Transplant Proc. 2014; 46:1578-1584. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2013.12.068> PMID: 24935331
 33. Erpicum P, Weekers L, Detry O, Bonvoisin C, Delbouille MH, Gre'goire C, et al. 腎移植後の第三者間葉系間質細胞の注入：第I-II相非盲検臨床試験。Kidney Int. 2019; 95: 693-707. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.08.046> PMID: 30528263