
肝コアクーリング法による
リビングドナーからの部分肝移植

(01570731)



平成元年度科学研究費補助金 [一般研究 (C)] 研究報告書

平成3年3月

研究代表者 山本 哲
(旭川医科大学医学部)

I . はしがき

1) 研究の目的と意義

1955年 Welch らによる最初の実験的肝移植の報告以来、重篤な肝疾患に対する治療法として、血管系の吻合を伴う肝移植が現実のものとなった。その後、Starzlらによる人での全肝移植の報告があり、肝移植は同所性全肝移植が主流となったが、なお手術適応の拡大、あるいは成績の向上についての模索が続けられていた。

部分肝移植は当初、代用肝移植として、いわゆるレシピエントの肝臓を摘出しないまま補助肝を移植する方法として検討され、そのスペースを確保するために、全肝よりは部分肝のほうが有利であるとして、1967年 van der Heyde らによって最初に報告された。

(表1)以来、部分肝移植は代用肝移植として実験的あるいは臨床での報告が相次ぐが、いずれも満足の行く結果とは言えず、1970年後半のサイクロスポリンの登場による全肝移植の著しい成功の陰でやや忘れられた存在となっていた。

しかし、1984年 Bismuth と Houssin によって同所性部分肝移植の臨床での最初の成功例が報告され、部分肝移植は再び日の目を

Van der Heyde	1966	犬	heterotopic (腸骨窩)	肝動脈、肝静脈のみ吻合
M Mito	1967	犬	heterotopic	門脈動脈化
B Sigel	1967	犬	heterotopic (頸部)	自家移植
H Aoki	1967	犬	heterotopic	自家移植および同種移植
RJ Corry	1969	犬・猿	heterotopic	host liver は肝動脈のみで feed
R Mizumoto	1974	犬	heterotopic orthotopic	living donor からの donation も 行なう。
NJ Lygidakis	1985	豚	heterotopic	肝静脈の再建に工夫
G Rossi	1987	豚	orthotopic	13/15 が 5 日以上生存
HGM Boemaars	1987	豚	heterotopic	living donor から部分肝摘出

表 - 1 . 実験における血行再建を伴う肝部分移植

見ることとなった。これは従来の代用肝移植とは異なり、小児の肝移植でドナー肝を得るチャンスがきわめて稀な場合に、成人の肝臓を減量して移植する、いわゆる同所性減量肝移植法と呼ばれるものであった。この方法により、重篤な肝疾患で死に直面している小児に移植による治療の可能性を与えることとなり、待期死亡率が低下した。現在では、ベルギーの de Hemptinne らの報告にあるように 1 年生存率が 83% と非常に高く、小児における全肝移植の成績と比較して遜色のないものになっている。さらに 1990 年の報告によると、体重が 20 倍も多いドナーからでも移植が可能となり、生後 2 か月、体重わずか 4.9kg の乳児でも肝移植による治療が受けられ

るようになっている。しかし、この治療法も、肝臓提供者の死を前提とする治療法であるため、脳死が認められない我国においては施行しえない方法であった。

一方、近年リビングドナーからの部分肝移植法が検討され始め、実験的には1987年ESSRにおいて、オランダのBoemaarsらの報告が見られる。これは特殊な二重パイプを肝臓の後面の下大静脈に挿入し、肝循環を独立した系として全肝の脱血およびharvestingを行ない、ドナーの生存率62.5%、レシピエントの生存率75%という成績を報告していたが、実際の臨床では臓器提供者の生存率は100%でなければならず、安全性という点でなお問題の多い方法であった。

そこで我々は、ドナーの負荷が少なくかつバイアビリティーの高い移植臓器を摘出するには、ドナー肝をいったん冷却し、低温下で手術操作をすることが、移植臓器のバイアビリティーの維持と、臓器提供者の安全に有利であると考え、コアクーリング法による部分肝摘出と、その移植術を検討した。研究では、この摘出法による肝の代謝面に対する影響と、自家移植手技による移植成績として評価している。

2) 研究組織

研究代表者：山本 哲（旭川医科大学医学部助手）

研究分担者：葛西真一（旭川医科大学医学部講師）

研究分担者：柿坂明俊（旭川医科大学医学部助手）

3) 研究経費

平成元年度	1, 000千円
平成2年度	1, 100千円
計	2, 100千円

4) 研究発表

ア. 学会誌等

①. 水戸迪郎，山本 哲，沢 雅之：

部分肝移植の実験研究から臨床応用までの歩み.

今日の移植 投稿中

イ．口頭発表

- ①．山本 哲，葛西眞一，沢 雅之，平井修二，柿坂明俊，
大江成博，江端英隆，水戸迪郎：
自家移植手技による生体部分肝移植の実験的研究
第26回日本移植学会 1990年10月31日
- ②．山本 哲，葛西眞一，沢 雅之，平井修二，柿坂明俊，
江端英隆，水戸迪郎：
自家移植手技による生体部分肝移植の検討
第3回北海道代用臓器研究会 1991年 1月20日
- ③．沢 雅之，葛西眞一，山本 哲，平井修二，水戸迪郎：
自家移植手技による生体部分肝移植の実験的研究
第27回日本肝臓学会 1991年 5月28日（予定）
- ④．沢 雅之，葛西眞一，山本 哲，平井修二，近藤啓史
柿坂明俊，江端英隆，水戸迪郎：
生体部分肝自家移植の実験的研究
第9回肝移植研究会 1991年 7月24日（投稿中）

II . 研究 成果

[1] 移 植 臓 器 の 摘 出

1) 冷 却 灌 流 装 置 お よ び 深 部 温 度 測 定 装 置

部分肝を摘出するにあたり、肝臓の有効な冷却灌流を行なう必要があり、写真-1の如く、灌流ポンプとしてメラ血液ポンプ (MBP-107)、冷却装置としてWK4DS (COLORA Messtechnik GMBH) を、また肝臓の深部温度をモニターするためにポータブルハイブリッドレコーダー3087 (横河北辰電機) を手術台の傍に設置し、ヘパリン添加 (5000単位/L) 乳酸リンゲル液にて冷却灌流した。

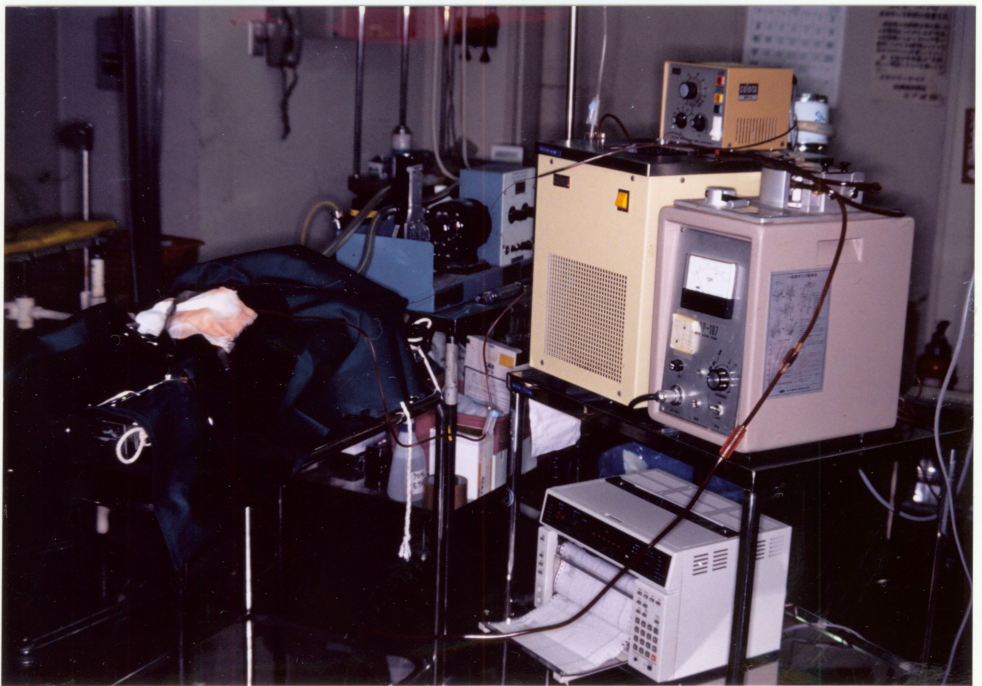


写真-1 . 冷却灌流装置および深部温度測定装置

体外循環回路としては、シリコンチューブ（内径5.0mm）を使用し冷却槽内には血液の加温コイル（東レBLT-500：内径3.5mm,内容積40ml）を接続、冷却槽内の温度は摂氏4度とし、毎分50~150mlの流速で灌流した。

2) 動物実験

実験動物としては体重8~15kgの犬および体重15~20kgの豚を用いた。ネンプタール（犬）あるいはケタミン（豚）で麻酔した後、気管内挿管を行ない調節呼吸とした。

脾静脈および大腿静脈に坑血栓性チューブ（アンスロン）を挿入して門脈血のバイパス経路とし、さらに右腎静脈と右頸静脈をやはり同一のチューブで結んで大循環のバイパス経路とした。

肝右葉に深部温度計のプローブを挿入し、抜けないよう肝表面に糸で固定し、深部温度を連続測定した。（図1）

次に門脈本管に体外循環回路のシリコンチューブの送液側を、また肝下部大静脈から肝後面に脱血側のチューブを挿入した。（門脈本管送液群）これに先立って、脾静脈内に送液側のチューブを挿入し毎分50mlの速度で肝臓内を灌流するモデル（脾静脈送液群）を試みたが、肝臓の深部温度を摂氏10度まで低下させるのに1時間以上を要した。

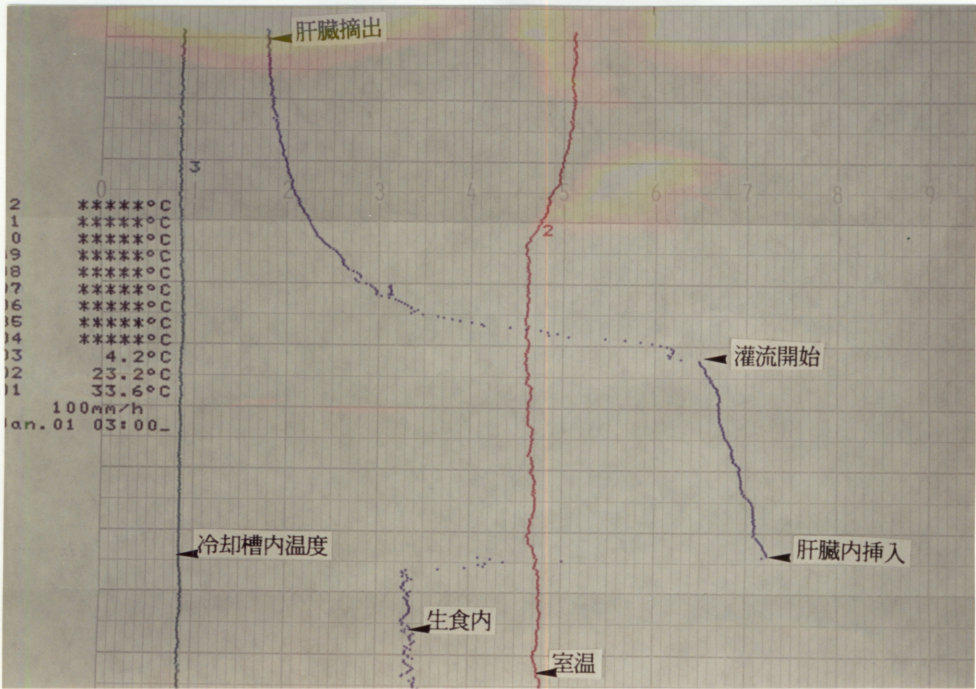


図 - 1 . 冷却灌流時の肝臓の深部温度 (門脈本管より送液)

固有肝動脈、および肝上部下大静脈をクランプした後、体外循環を開始し、摂氏4度の乳酸リンゲル液を毎分100mlで灌流したところ図-1で示されるように、およそ20分で摂氏10度にまで肝臓は冷却され、摂氏9度前後でプラトーに達したため、肝葉を摘出した。灌流開始から肝葉摘出まではおよそ30分であり、肝葉切離操作には十分な時間であった。冷却効率については、犬、豚共にほぼ同じ結果が得られ、豚で灌流速度を毎分150mlにまで増加させることができたが、冷却効率に有為な差を認めず、冷却槽の放熱コイル

の容量の問題と考えられた。

肝葉の切離では、図
- 2のごとく、切離線
を、肝左葉中央区域
(LCL)と肝右葉中
央区域(RCL)の間
とし、肝門部の脈管系
を遊離しつつ、左胆管
には6Frのシリコン
チューブを挿入した。
次いで、肝実質をキュ
ーサーを用いて切離し
て行くのであるが、こ
の操作において、犬に
ついては左葉との切離

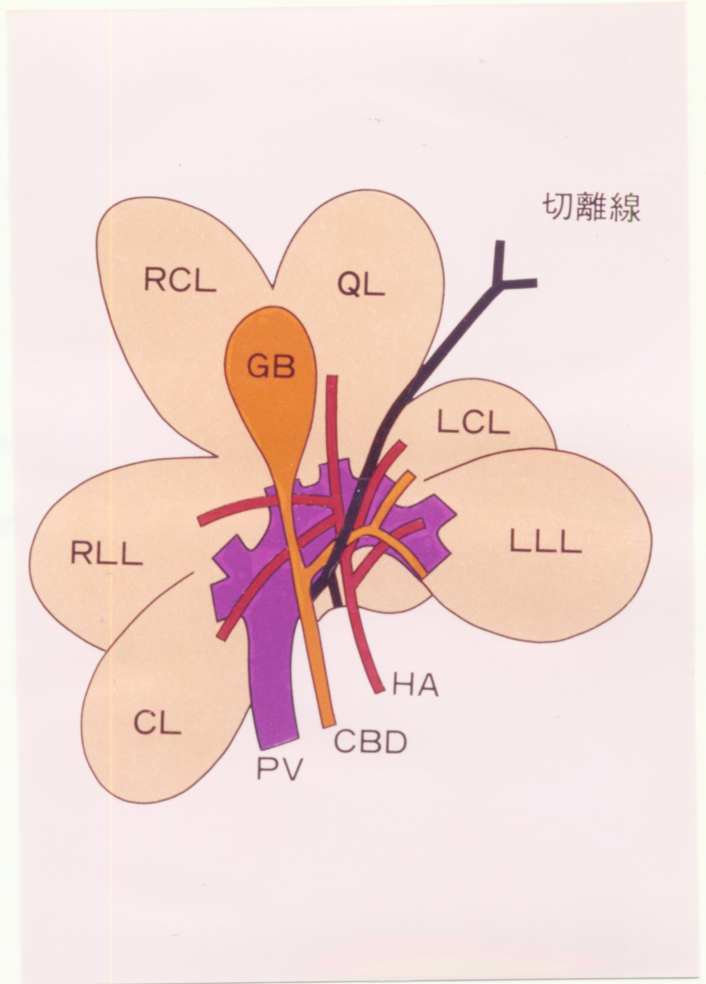


図-2. 肝葉の切離線(犬)

面積が少なく特に問題を認めなかったものの、豚では切離面積が大
きく、さらに下大静脈に流入する短枝群が多く、脆い事などの理由
から、この実験系を継続するのに困難と考えられ、移植実験ではす
べて犬を用いた

肝葉摘出が終了した後、体外循環用のシリコンチューブをそれぞ

れ抜去し、門脈と下大静脈を4-0プロリンにて再建した。次にシャントチューブを抜去しながら脾臓および右腎を摘出し手術操作を終了した。(コアーキング群：n=3)

肝灌流開始直前、肝葉摘出直前、閉腹直前の3点で肝臓の組織を一部取り、以下の条件でHPLCにより肝組織中のアデニンヌクレオチドを測定し、エネルギーチャージを測定した。

またコントロールとして、門脈バイパスを行わず門脈左枝に摂氏4度の乳酸リンゲル液を注入して血液をウォッシュアウトし、肝左葉摘出を行なった群(ウォッシュアウト群：n=3)を用いた。

3) 冷灌流前後における肝組織エネルギーチャージ

採取した肝組織を液体窒素中にて凍結し、100倍容の0.5N過塩素酸を加えてホモジナイズ、これを3000rpm., 4°C, 10min. で遠心して上清を採取した。さらにこれに1N KOHを適量加えて中和し、上記の条件で遠心し、その上清をサンプルとしてHPLCによる測定まで-20°Cで凍結保存した。

測定装置として、LC-6A(島津)、SPD-6A(島津)、CR5A(島津)、およびオートサンプラーSIL-6A(島津)を用いた。

カラムはシリカ系(TSK gel ODS-80T_M)を用い、100mMリン酸

バッファー (pH6.0), 1.2% メタノール添加液を1.0ml/min.の流速で送液し、10 μ lのサンプルを注入した。

ATP、ADP、AMP濃度は、それぞれスタンダード試料と比較してその濃度を測定し、エネルギーチャージは：

$$(ATP + 1/2ADP) \div (ATP + ADP + AMP)$$

により算出した。

	エネルギーチャージ	
	コアクリーニング群	ウオッシュアウト群
肝灌流開始直前	0.84 ± 0.07	0.85 ± 0.08
肝葉摘出直前	0.71 ± 0.15	—
閉腹直前	0.78 ± 0.12	0.80 ± 0.09

表-2. 冷灌流前後における肝組織エネルギーチャージ

灌流前後における肝組織中のエネルギーチャージの結果からは、コアクリーニング法、単純ウオッシュアウト法の両群に有為な差は認めず、肝臓の代謝に与える影響は両群ともに極めて少ないと考えられた。

肝葉摘出動物の術後一週までの観察では、全例が生存し、血液生化学検査上も術前値に復すなど両群に差異を認めなかった。

[2] 同所性肝部分移植

1) ウオッシュアウト法による肝左葉摘出

門脈左枝に挿入したポリエチレンチューブを介して摂氏4度の乳酸リンゲル液を肝左葉内に流入させて血液をウオッシュアウトした後、ただちに肝葉を摘出してバックテーブルの氷水中に移し、さらにその氷水中で臓器保存液として開発されたUW液(デュボン)を約200ml灌流、血管

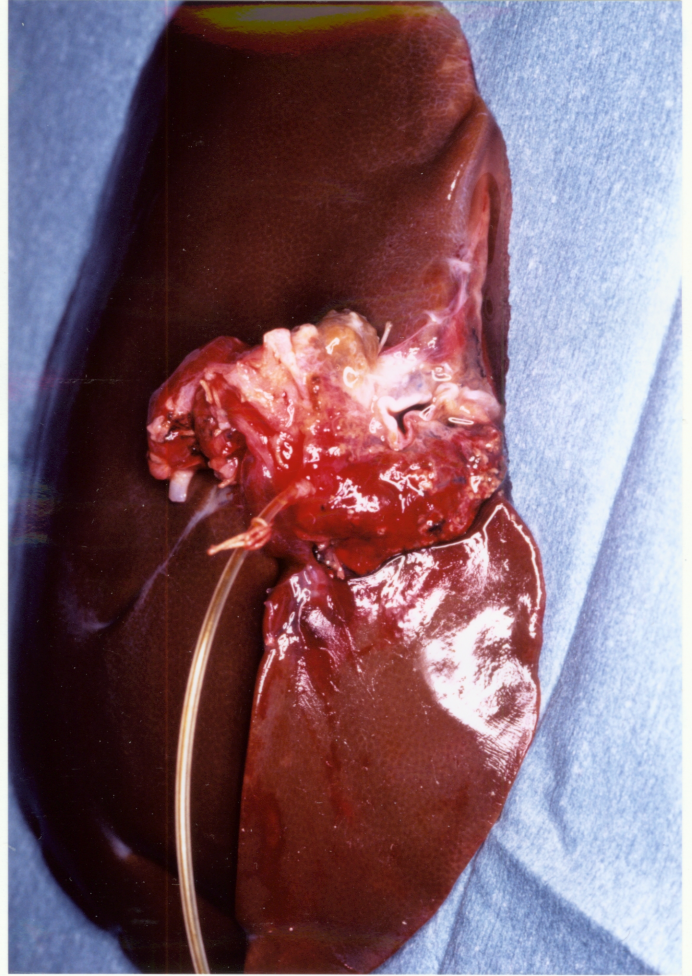


図-3. 灌流摘出された肝左葉

吻合のために、左肝静脈、門脈左枝、総肝動脈をそれぞれ遊離調整した。さらに肝実質断面をフィブリン糊(ベリプラスト®)で覆った。これによって全肝の約45%の部分肝を調整する事となり、吻合操作の開始までおよそ1時間氷水中で保存した。

2) 自家移植手技による部分肝移植

臓器移植においては同種移植が一般的であり、移植後の拒絶反応を予防するために、サイクロスポリンなどの免疫抑制剤が用いられる。しかしその投与量および薬物性の腎毒性など、動物種によってまちまちであり、動物実験においては移植免疫の成績への影響を除外することがしばしば困難である。従って我々は、自家移植という手技（本来はありえない状況であるが）を用いることにより、移植免疫の介入しない、純粹に臓器摘出およびその移植にまつわる技術的問題を解決するためのモデルを採用した。

左肝葉摘出の終わった動物を、今度はレシピエントとみなして手術を進めるのであるが、まず脾静脈と左頸静脈の間にヘパリンコーティングのシャントチューブを挿入して門脈血をバイパスさせながら残存する右肝葉を全摘した。（図-4）

次に氷冷されていた部分肝（左葉）を、本来は右葉のあった位置に、外側区（LLL）が表になるよう180度反転して置き、その肝静脈の高さと一致する下大静脈をサテンスキー鉗子で、下肢からの静脈血の流れを妨げないように部分的にクランプした後、5-0プロリンにて端側吻合した。さらに門脈本管とグラフトの門脈左枝は6-0プロリンにて端端吻合、動脈は総肝動脈の位置で7-0プロリンにて端端吻合した。胆道系は左胆管内に挿入したチューブを

そのまま外瘻とした。

図-5は肝静脈と門脈の吻合が終わった段階を示しており、グラフトにはまだ血流がなくやや白色調を呈している。この後、それぞれのクランプを開放して血液を肝臓に流入させてから動脈の吻合を行った。

クランプ開放後の肝臓の色調はムラなく赤色調を呈し、門脈のバ

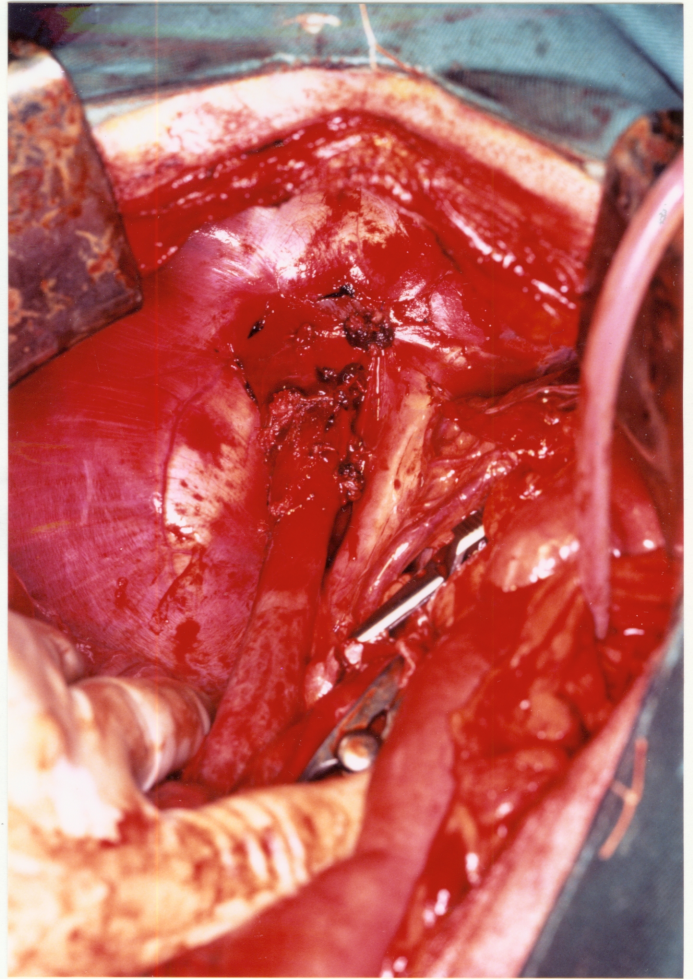


図-4. 肝全摘時の腹腔の状態

イパスを撤去した後も腸管の鬱血とうは認めず、門脈血がグラフト肝を通過してスムーズに大循環に流れていると考えられた。(図6)

出来上がりを図7にシェーマで示した。肝葉は摘出前の45%にまで減量され、位置も左から右に移されている。静脈系の吻合は正面より右寄りに行ないグラフトの角度からout flow blockの起きない位置を選んだ。グラフトを置くスペースとしては、肝全摘を行な

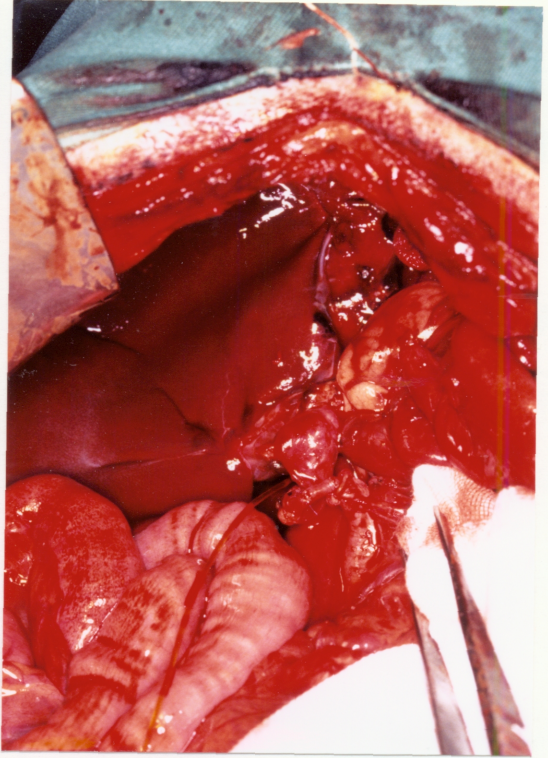
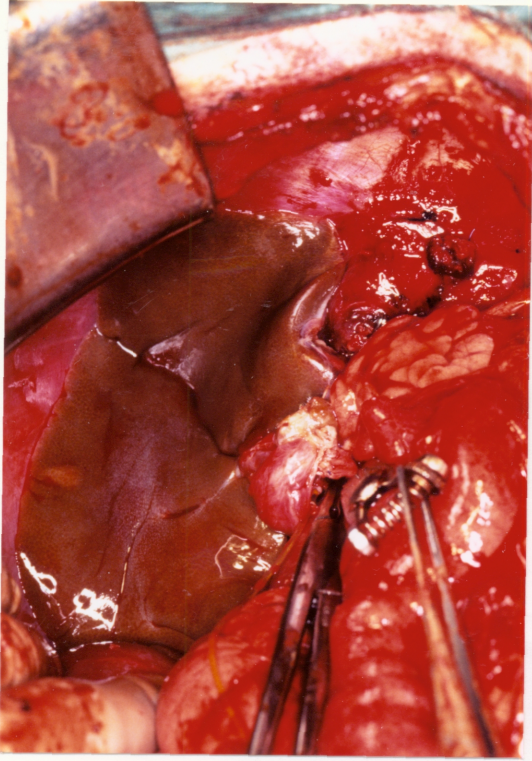


図 - 5 . 血流再開前

図 - 6 . 血流再開後

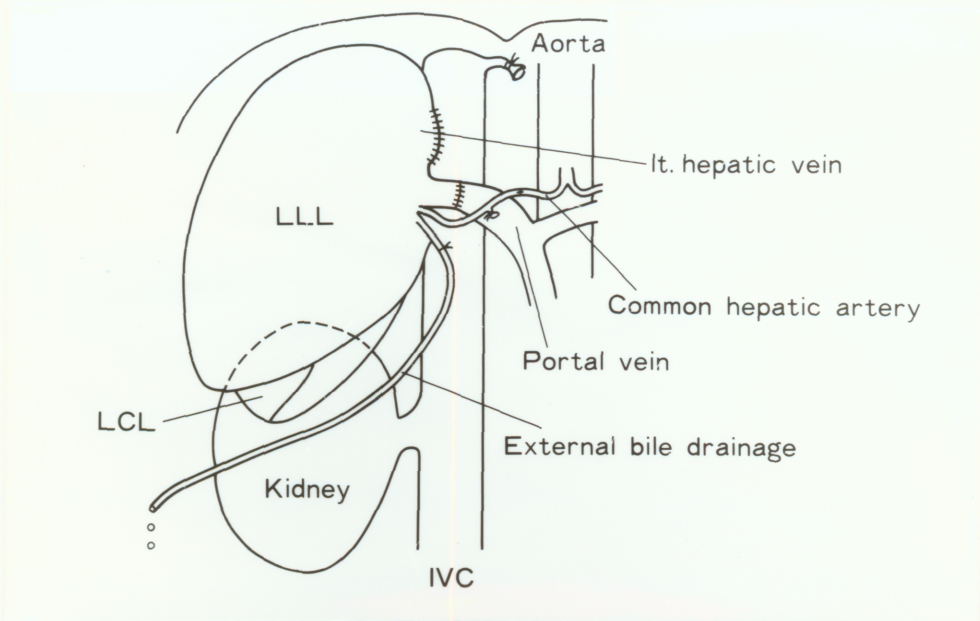


図 - 7 . 部分肝移植完成時のシエーマ

っているので全く問題なかった。

3) グラフト機能の検討

肝移植後のグラフト

機能を最もよく反映する指標の一つに動脈血ケトン対比の測定がある。これは肝組織のエネルギーチャージの状態を、肝組織を取ることなく、血液採取によってのみ窺い知ることができる簡便な方法として、肝臓の、主にミトコンドリア機能を評

価する指標とされている。

動脈血ケトン体比

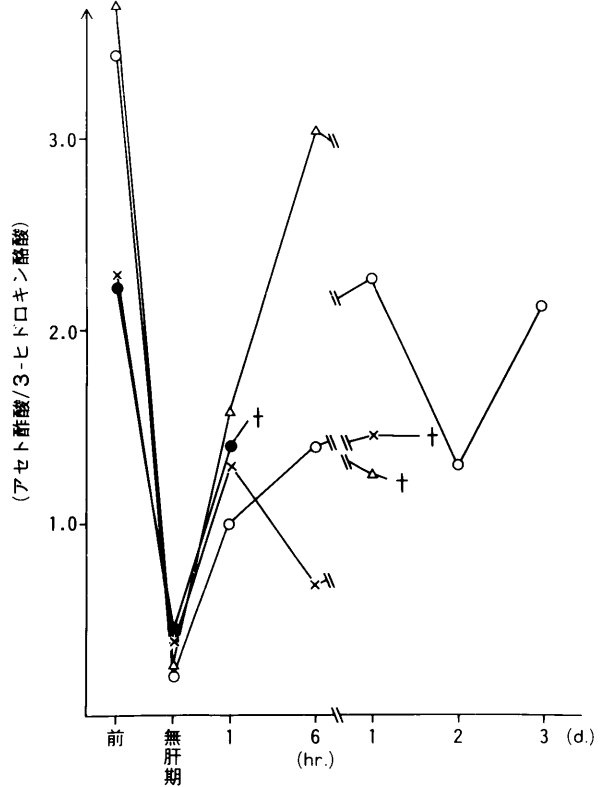


図-8. 部分肝移植前後の

動脈血ケトン体比

最近の報告に、肝臓移植後血流を再開して1時間目および6時間目のこの指標が、その後のグラフト生着と良く相関することが言われており、我々の自家移植モデルについても、術全、無肝期、血流

生体部分肝移植後の肝機能 (ケース 1)

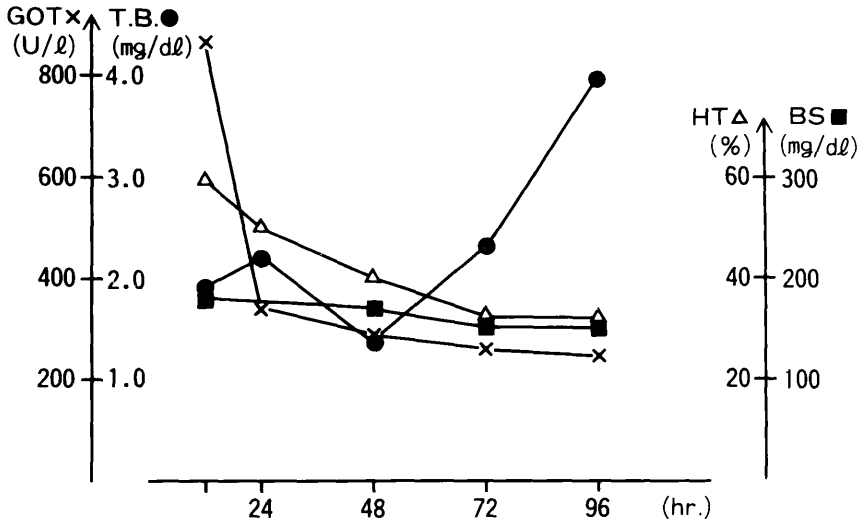


図 - 9 .

生体部分肝移植後の肝機能 (ケース 2)

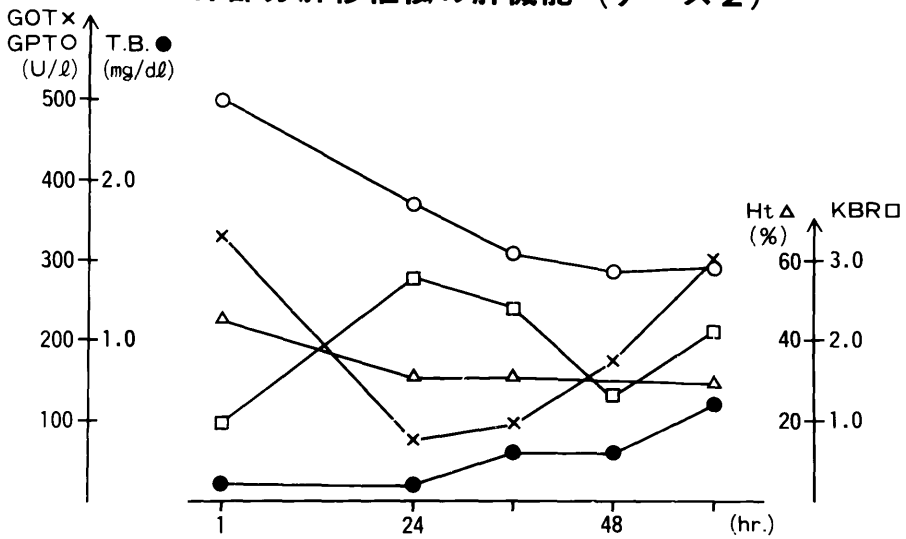


図 - 10 .

再開 1 時間後、および 6 時間後、さらに術後 1 日から 3 日目まで測定した。動脈血ケトン体比測定にはケトレックス®（三和化学）を用いて分光光度計により測定、

アセト酢酸濃度 ÷ 3 - ヒドロキシ酪酸濃度

の比率を算出した。

術前の高い値から、無肝期には 0.4 以下にまで低下するが、血流再開 1 時間後には既に 1.0 をこえ、6 時間後でも高値を保っていることから、摘出した肝臓の機能に何ら問題はないと思われた。

個々のケースについて、血液生化学検査（GOT・GPT・総ビリルビン濃度）、ヘマトクリット値、血糖値などを連日測定した結果を図 - 9（ケース 1）および図 - 10（ケース 2）に示した。

ケース 1 では、血清中の GOT レベルが移植直後より徐々に低下し正常化に向かうものの、ビリルビンレベルは増加し、結局このケースでは、腹腔内の感染症によって術後 6 日目に死亡した。経過中の血糖値は 100 ~ 200 mg / dl と良好に維持されていた。

ケース 2 では、血清中の GPT は徐々に減少して、ビリルビンレベルの上昇も軽微であったにもかかわらず、一旦は正常化した GOT が再上昇し、ヘマトクリット値は変わらないのに術後 3 日目に循環不全にて死亡した。解剖により、心臓内に無数のフィラリアを認め、これによる心機能障害によるものと考えられた。

	(n)	生存期間 (時間)
出 血	3	(10, 10, 10)
門脈内血栓	2	(10, 16)
循環不全	4	(38, 40, 48, 72)
感 染	1	(144)

表 - 3 . 生体部分肝移植後の死因

4) 成績

移植後の成績を表 - 3 に示した。シリーズの 10 頭の死因では門脈の血栓形成が 2 例に見られた他、出血および循環不全に関するものが 7 例と圧倒的に多く、最も注意すべき点であった。また 4 日以上生存例では感染症が主な死因であった。この方法におけるグラフト機能については、経過中のケトン体比で見る限り機能的な問題はないと考えられるが、最長生存がわずかに 6 日であるためなお検討の余地があると思われる。

5) コアクリーニング法による肝左葉摘出

[1] の方法に従ってバイパス経路を設置した後、全肝を冷却灌流しながら前述の切離ラインにそって肝葉切離を行なった。グラフ

ト摘出後、門脈内に UW 液 50 ml を注入して、吻合操作の開始まで氷冷乳酸リンゲル液中に保存した。

肝全摘操作の後、ゆっくり下大静脈系に血液を流入させ、出血部位があれば 5-0 プロリンにて縫合止血、さらに肝上部下大静脈のクランプを開放し、腎静脈と頸静脈のバイパスも撤去した。

摘出されたグラフト肝は、外見上もウオッシュアウト群と差異はなく移植後のグラフト機能検査でも有為な差は認めなかった。

しかし、全体の手術時間は、コアクーリングを施行した群のほうがウオッシュアウトのみの群に比して、およそ 1 時間だけ長くかかった。

Ⅲ．考察と今後の展望

生体部分肝移植において、高いグラフト機能を求めることは時として臓器提供者に負荷となり、その安全性を脅かすものとなる。そこでグラフト摘出に安全性を加味した工夫が必要であり、今回はコアクーリングという方法により臓器提供者の肝臓機能の保護と摘出するグラフトの機能に問題がないかどうかを検討した。

肝臓の冷却効率の面からは、脾静脈を介する冷却法では実用性に乏しく、門脈本管より送液する必要があった。しかし、コアクーリングによる冷却法と、血液をウオッシュアウトしたのち氷水中で冷

却するウォッシュアウト群との間では、肝のエネルギー代謝で評価する限り有為な差は認めなかった。

コアクリーニング法においては、肝葉の切離に十分な時間があり、かつ肝全摘においてもバイパス経路が確立しているため不測の出血にとらわれず丹念な摘出操作が行なえる点が、ウォッシュアウト法に比較して有利な点であった。

しかし逆に、バイパス経路が増え、それを設置するために損傷した血管の修復などに時間を費やさねばならず、手術が複雑かつ時間が長くなるなどの欠点があった。

いずれにせよ、現在までに我が国で既に17例に及ぶ生体部分肝移植が行なわれているが、いずれのケースも、ドナーの手術で、グラフト肝を調整するのにウォッシュアウト法が用いられており、特に問題は提起されていない。従って現実的には、部分肝移植の現場では、コアクリーニングを必要とする状況は少ないのかもしれない。

ただし、この方法は肝硬変合併肝癌で、腫瘍の占拠部位などから容易に切除できないような症例に対して、出血を回避しながら丹念に腫瘍切除を行ない、しかも残存肝の機能の保護ができる方法として利用価値があると思われる。