

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2017) 第17巻:50-53.

平成27年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題10)心停止ドナーからの肝臓移植に関する摘出、保存中の酸素供給に関する基礎的検討

萩原 正弘

11) 心停止ドナーからの肝臓移植に関する摘出、保存中の酸素供給に関する基礎的検討

Applicability of Combined Use of Extracorporeal Support and Temperature-Controlled Machine Perfusion Preservation for Liver Procurement of Donors After Cardiac Death in Pigs.

研究代表者 萩原 正弘

【目的】

移植臓器の保存方法は、単純冷却する方法と灌流装置に接続し保存液を循環灌流させる方法がある。我が国では、単純冷却による保存方法が主流である。一方、世界的にドナー不足は深刻で、高齢者ドナーなどの Expanded criteria donor (ECD) や心停止ドナー (Donation after circulatory death : DCD) などいわゆるマージナルドナーが普及し、提供数増加に寄与している。しかし DCD や ECD からの臓器移植では移植後の虚血再灌流障害ともいふべき移植後無機能 Primary non function : PNF) や遷延性機能障害 (Delayed graft function : DGF) が高率に発生し長期予後に影響する。de Rougemontn らは摘出肝臓を単純冷却保存で持ち帰り、1時間程度灌流して Viability などを判定して、移植を行うか否か決定、あるいは灌流保存により機能を回復させる方法として報告した¹⁾。Obara らは、流体力学的視点から温阻血時間が長くなると、保存中の肝動脈圧

が低下しなくなるということも報告した²⁾。臨床では2010年、Guarreraらは門脈、肝動脈から低温持続灌流保存を行い臨床応用している³⁾。一方、常温灌流保存は使用する灌流液にもよるが基本的に臓器は生理的な状態で保存される⁴⁾。心停止ドナーからの肝臓は長く冷却しても障害は進行し、常温灌流保存でも問題が残る。常温灌流保存における流量は生体内と同じもので灌流を始めるとアシドーシスが進行、代謝産物が生み出される。また常温であるため灌流中の微小循環障害、血栓の問題が必ずある。バルセロナ大学の肝移植チームは2007年にuncontrolled DCDに対して膜型人工肺(NECMO)を装着して肝移植を行った10例について報告した⁵⁾。移植後無機能(PNF)が一例、肝動脈血栓が一例のみという優れた成績を報告した。心停止後摘出された肝臓に対して、臓器摘出前の膜型人工肺と血液濾過透析を組み合わせた体内灌流をSubnormothermic条件(20~23℃)下において導入してその有用性について検討した。

【方法】

ブタを用いて心停止後60分の肝移植について、臓器摘出前のECMOによる室温死体内灌流の導入、摘出後、灌流型臓器保存の有用性について検討した。ブタ肝臓を心停止後60分の温阻血障害をおき、subnormothermic(20~23℃)下で60分間、膜型人工肺(小児人工肺HEH06:泉工医科)による酸素化とともに、透析膜(ポリスルホン膜ダイアライザーPinnafine:日機装)によりドナー管理を行った【図1、2】。体内灌流により酸素化された臓器は摘出後2時間単純冷却し、開発中の灌流型臓器保存装置に配置し肝動脈、門脈あるいは腎動脈と接続、Subnormothermic

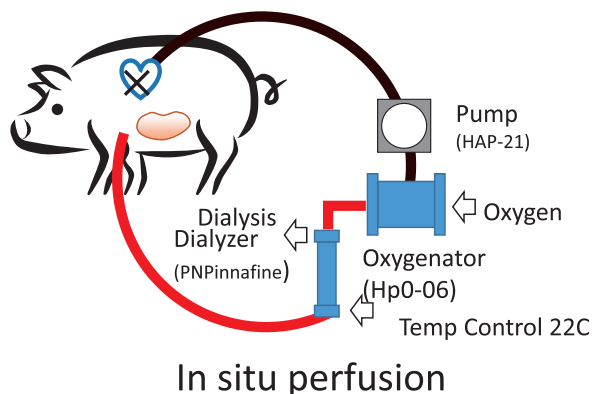


図1 本実験図

条件(20-23℃)で灌流しながら評価を行った。体内灌流中は血液成分分析装置によるpH、乳酸、Base excessを計測し、評価としての器械灌流では灌流圧・流量ならびに灌流液中の逸脱酵素AST、ALT、LDHなどにより灌流状態を評価した。

【結果】

膜型人工肺と透析膜を組み合わせた体内灌流ではPH7.2から7.4と回復したが、乳酸は17.5以上と改善しなかった。灌流評価中の逸脱酵素AST、LDH(IU/L)は体内灌流群と比較しそれぞれ2242vs1050、4455vs2055と体内灌流群で低値であった【図3】⁶⁾。

【考察】

以上の実験より心停止ドナーからの移植は、冷温ではない環境で早期に酸素を供給することが重要と考えた。酒井らはヒトヘモグロビンを修飾しリポソーム化した人工赤血球を作製した⁷⁾。人工赤血球を臓器灌流保存液に含有させブタ肝臓を用い灌流、虚血再灌流実験を行った。人工赤血球の有無に分けた灌流保存液で4時間の灌流保存後さらにドナー血液を生理食塩水、低分子デキストランなどで希釈した液を用い、ex vivoで虚血再灌流実験を行い2時間経過観察した。結果は保存中の肝動脈圧力の減少率、逸脱酵素(AST, LDH)の時間変化量はともに有意差はなく、保存中酸素消費量も有意差を認めなかったが、再灌流後2時間で人工赤血球含有灌流保存液群において、門脈圧の上昇、肝動脈圧の上昇は有意に抑えられた。また組織中TNF, IFNのmRNAの発現は再灌流後1、2時間で低値であり、虚血再灌流障害の軽減が示唆された。しかし、実験に用いた人工赤血球含有灌流液はHct2~3g/dlと少なくその効果の発現を期待するには人工赤血球の増量とさらなる実験が必要と考えられた。

今回の研究では臓器摘出前の膜型人工肺と血液透析を組み合わせた体内灌流の有効性が示された。マージナルドナーの強い移植後再灌流障害を軽減することのできる上に、移植術前にグラフトviabilityを客観的に判断することは安全な手術が可能となり、リスクのある手術を回避できる。さらに単純な保存から栄養や酸素を与え、積極的に機能回復へ進めることのできる持続灌流保存の可能性を示唆させた。

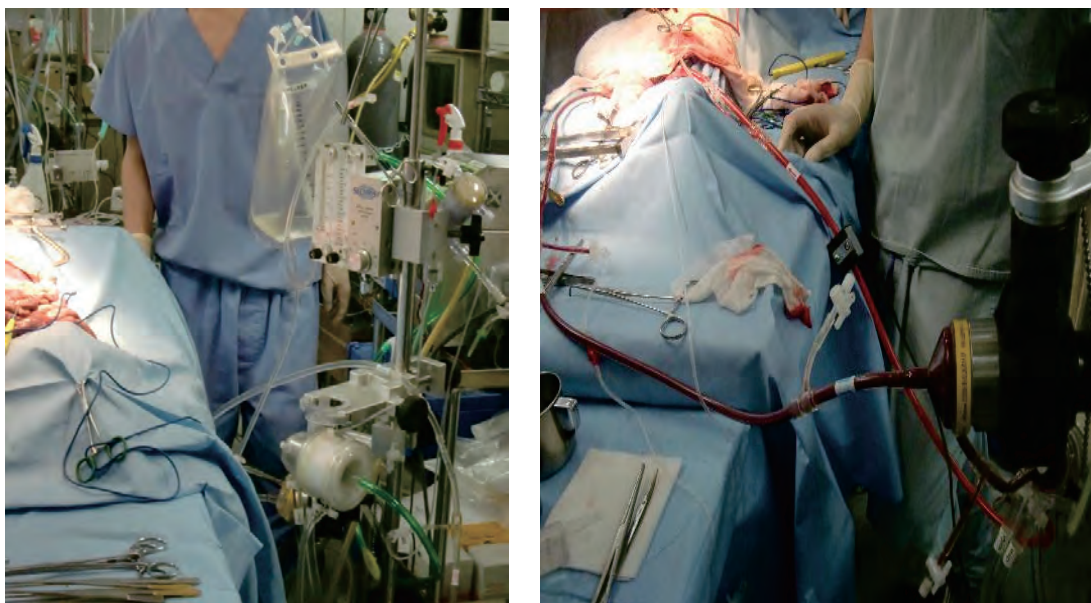


図2 実際の実験風景

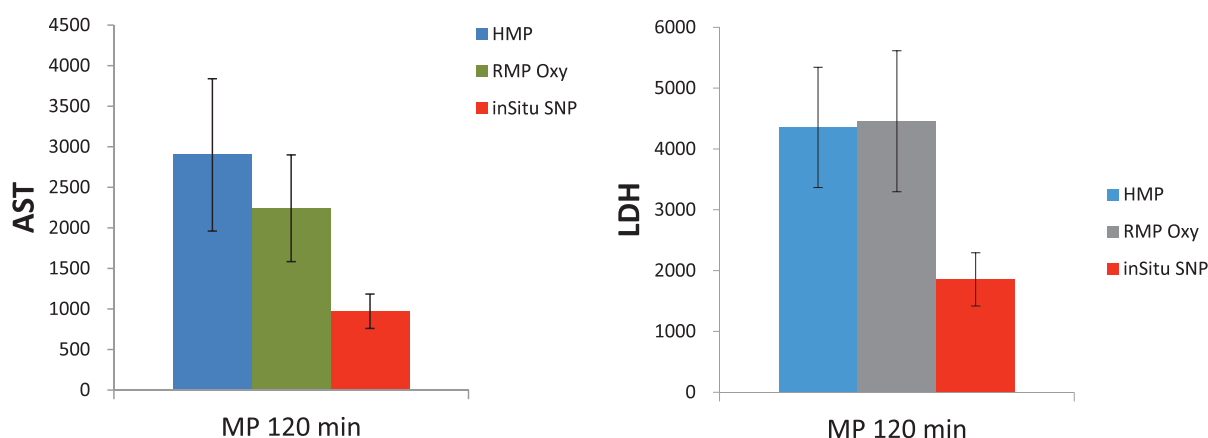


図3 灌流保存装置による評価：逸脱酵素変化量の比較

【文献】

- 1) de Rougemont O, Breilenstein S, Leskosek B et al. One hour hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects nonviable liver allografts donated after cardiac death. *Ann Surg* 250:674-683, 2009.
- 2) Obara H, Matsuno N, Enosawa S et al. Pre-transplant screening and viability evaluation of a liver graft using a machine perfusion. *Transplant Proc* 44 (4):959-961, 2012.
- 3) Guarrera JV, Henry SD, Samstein B et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation The first clinical series. *Am J Transplant* 10 (2): 372-381, 2010.
- 4) Shon MR, Kollmar O, Wolf S et al. Liver transplantation after organ preservation with normothermic extracorporeal perfusion. *Ann Surg* 233:114-123, 2001.
- 5) Fondeviella C, Hessheimer AJ, Ruiz A, et al. Liver transplant using donors after unexpected cardiac death: Novel preservation protocol and acceptance criteria. *Am J Transplant* 7:1849-1855, 2007.
- 6) Hagiwara M, Matsuno N, Meng LT et al. Applicability of Combined Use of Extracorporeal Support and Temperature-Controlled Machine Perfusion Preservation for Liver Procurement of Donors After Cardiac Death in Pigs. *Transplant Proc.* 48 (4):1234-8, 2016.
- 7) Sakai H, Seishi Y, Obata Y et al: Fluid resuscitation with artificial oxygen carriers in hemorrhaged rats

Shock 2009. 31. 2. 192-200.