

令和元年5月27日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15635

研究課題名（和文）新しいドナー肺保存法CVLPの開発

研究課題名（英文）New preservation system for donor lung

研究代表者

野田 雅史（MASAFUMI, NODA）

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：70400356

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：我々は保存中に低温で人工呼吸器により換気を継続し酸素供給を行う低温持続換気肺保存法（CVLP：continuously ventilated lung preservation）を開発し、長時間肺保存における有効性を検討した。低温持続換気肺保存法により、移植後の肺機能が従来の冷却膨張肺保存法に比べより保たれる可能性が示唆された。これは臓器保存中の換気により肺の代謝が維持されるためと推測された。本保存法により長時間の安定した臓器保存が可能となれば、肺移植後の急性期及び慢性期の肺障害を抑制し肺移植の予後改善に寄与するものと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳死肺移植において、ドナー不足は喫緊の課題であり、数少ないドナー肺を有効に利用するため、本アプローチが将来的に臨床応用可能になることで、多くのドナー肺利用が可能となる。

研究成果の概要（英文）：We investigated continuously ventilated lung preservation using pig model. CVLP is possible to preserve donor lung functions.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：低温持続換気保存

1. 研究開始当初の背景

日本における肺移植の実臨床に EVLP 等の肺灌流法を用いた肺保存を応用する為には、コストや保険の問題があるが、世界の肺保存では灌流肺保存が行われる方向にあり日本においても導入されることとなるであろう。しかし、DCD ドナーの肺評価方法として発展してきたことから EVLP はドナー肺の評価法としては優れているが、長時間肺保存に有効であるとのエビデンスは未だない。以上の現状から現行のものに比べてより長時間安全にドナー肺を保存できる新たな方法の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脳死ドナー肺の保存中にエネルギー供給を行うことでドナー肺の恒常性を維持することを目的とした新しい肺保存法、すなわち低温持続換気肺保存法 (CVLP : continuously ventilated lung preservation) の有効性を検討することである。

3. 研究の方法

24 時間保存前後の気道内圧の酸素濃度、二酸化炭素分圧の測定。

24 時間保存前後の組織中 ATP 濃度

各群の 24 時間保存後の肺組織 1g 中の ATP 濃度を求めた。ATP 濃度測定は『組織の』ATP 測定キット (TOYO B-NET, Co. Ltd. Tokyo, Japan) を用いた。肺組織をすり潰して測定キットのプロトコールに従い ATP を抽出する。96 穴プレートを用いて発光量をルミノメーター (Lmax II 384; Molecular Devices, LLC) で測定し、組織中の ATP 含有量を測定した。

24 時間保存前後の組織中乳酸濃度の検討

各群の 24 時間保存後の肺組織 1g 中の乳酸濃度を求めた。乳酸濃度は Lactate Assay Kit II (BioVision, Mountain View, CA) を用いた。96 穴プレートを用い、添付のプロトコールに従い、発生した呈色 (450nm) をマイクロプレートリーダー (SpectraMax M2e; Molecular Devices, LLC) を用いて測定し、組織中の乳酸濃度を測定した。

肺組織切片の作成

各群の保存前後の右肺、移植後の左肺の一部を切離し、4%パラホルムアルデヒド中に 24 時間固定した。固定後肺組織をパラフィン切片用に 15%、20%、25% ショ糖溶液に 24 時間おきに段階的に置換した。その後 O.C.T Compounds に包埋し、パラフィン切片を作成した。パラフィン切片は 3 μ m の厚さで薄切し切片を作成した。

術後管理中の血圧、SpO₂、脈拍などのバイタルサインの比較

15 分ごとに、人工呼吸器のモニターより 1 回換気量 (ml) 最高気道内圧 (cmH₂O)、気道内プラトー圧 (cmH₂O)、呼気終末陽圧 (cmH₂O)、吸入酸素濃度 (%) を測定した。生体モニターを用いて、心拍数 (回/分)、経皮的酸素飽和度 (%)、動脈に留置した留置針に観血的動脈圧測定器を接続し収縮期・拡張期血圧 (mmHg) を測定した。留置した Swan-ganz カテーテルを用いて、収縮期・拡張期・平均肺動脈圧 (mmHg) を測定した。

移植後 1 時間および 4 時間で右肺動脈を閉塞し、動脈血を採取し水素イオン指数 (pH)、動脈血酸素分圧 (mmHg)、動脈血二酸化炭素分圧 (mmHg) を測定した。またスワングアンツカテーテルおよび心拍出量モニターを用いて、心拍出量を求め、肺血管抵抗を算出した。

4. 研究成果

24 時間肺保存後では、deflation 群と inflation 群で気道内酸素が減少し二酸化炭素が上昇していた。また、他の群に比べ ventilation 群で肺組織内の ATP 濃度が保たれていた。左片肺移植後の移植肺

の肺血管抵抗は、移植後 1 時間では ventilation 群で他の群に比較し最も低く、移植後 4 時間でも低い傾向にあった。肺移植後の PaO₂/FiO₂ ratio も ventilation 群で他の群に比較して良好であった。肺移植後の wet/dry ratio は、ventilation 群で有意に低く、移植後の肺水腫が軽度であった。HE 染色による肺組織の評価でも ventilation 群で最もよかった。移植後 4 時間の生存率も ventilation 群で有意に良好であった。

現在の肺保存法は、ドナー手術においてクロスクランプを行い LPD 調整液 (EP-TU 液) で肺動脈から灌流を行う。その際に 50%酸素下に肺を 20cmH₂O にて膨張を維持して気管を閉鎖切断し肺をドナーから摘出する。バクテールで逆行性灌流を行ったあとアイソレーションバックに収納し、氷にて冷やされたクーラーボックス内に肺を入れて移送する。移植実施施設である東北大学に到着後、気管支、肺動脈、肺静脈 (左房) に吻合のためのカフを作成し、レシピエントの術野で気道を解放して吻合を行っている。持続換気肺保存を行う場合には、ドナー手術でクロスクランプを行い、EP-TU 液で肺動脈から順行性灌流を行ったあと、気管を閉鎖切断し肺を摘出する。バクテールで逆行性灌流を行ったあと気管を解放して気管チューブを挿入固定し、人工呼吸器に接続する。冷却された人工呼吸器が入るボックスに肺と人工呼吸器を入れて人工呼吸を行いながら移送する。移植実施施設である東北大学に到着後、気道に接続された気管チューブを肺が膨張した状態でクランプし、気管支、肺動脈、肺静脈 (左房) のトリミングを行ったあとカフを作成してレシピエントの術野に提供することが想定されている。

欧米のように肺移植件数が非常に多い地域では、Ex-Vivo Lung Perfusion (EVLP)を行う新たな肺保存がすでに臨床で応用されている。TransMedic 社の ex-Vivo Lung Perfusion system で、提供施設から移植実施施設までの搬送中に灌流と人工呼吸を組み合わせで行う装置があるが、これは人工呼吸器に加えて灌流装置、灌流液が組み合わされており、実際日本で行われる搬送方法 (公的な飛行機、タクシー、新幹線による搬送) では搬送できないサイズの装置となっている。EVLP は肺灌流液を用いて持続灌流を行いながら換気を行い肺の評価と保存を行う方法であるが、保存時間を延長させるというエビデンスはない。日本においてこの EVLP を導入したとしても、摘出肺の保存時間を安定的に延長することに寄与しないと考えられる。今回我々が行った肺保存中に換気のみを行う方法では、タクシーでも移動可能な人工呼吸器が組み込まれたボックスを使用し、1 回の肺保存コストに関しても現在とほぼ変わらない。また、持続換気保存法のような人工呼吸器のみを搬送中に行うシステムは公的な飛行機、タクシー、新幹線による搬送が可能であることから現状の日本で実施可能であり、実現可能な搬送方法であると考えられる。従って長時間の肺保存を可能にし、かつ現在の日本の肺移植の現状でも導入可能と考えられる持続換気肺保存法 (CVLP) の有用性や安全性が明らかとなれば、本邦において導入される可能性が十分にあると考えられる。

5 . 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

〔 雑誌論文 〕 (計 0 件)

〔 学会発表 〕 (計 0 件)

〔 図書 〕 (計 0 件)

〔 産業財産権 〕
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :

権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。