

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K04173

研究課題名（和文）臓器機能再生のための臓器内流動代謝融合可視化法による評価技術の確立

研究課題名（英文）Organ Assessment using a fusion visualization method of flow and metabolism for organ resuscitation

研究代表者

小原 弘道（OBARA, Hiromichi）

東京都立大学・システムデザイン研究科・准教授

研究者番号：80305424

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：確立された医療である臓器移植の唯一の課題は、提供臓器の不足であり、移植条件の悪い臓器や心停止後に提供される臓器を移植に適用するための研究が求められている。
本研究では、臓器機能保存や機能回復が可能な臓器灌流技術を用いて臓器機能の定量的な評価技術を提案した。臓器の機能評価手法は近赤外域の蛍光を利用するICG蛍光法と時空間温度流動計測法を融合し、流動情報、代謝情報と合わせミクロ、マクロな計測を融合した臓器内流動代謝融合可視化法を導入した。本手法により臓器移植のための機能評価技術を確立への基礎的な知見を整理し、本技術の有用性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は従来の技術では移植につなぐことに課題のあった臓器を移植前に評価することを可能とするものを可能とするものである。社会的な意義として、移植可能臓器数の拡大を図ることができるのみならず、移植することのできなかつた心臓停止後に提供される臓器の移植をおこなうための重要な機能評価を可能とする。従来は届けることのできなかつた臓器を届け、一つでも多くのいのちをつなぐことを可能とするものである。また、学術的には体外に取り出しされた臓器を統合的に機能評価可能とすることにより、今後の再生医療研究の発達のために必要な基盤技術として、また体外での臓器構築のための研究技術として重要なものである。

研究成果の概要（英文）：Organ transplantation, a well-established medical treatment, is the shortage of donated organs. Assessment method is necessary to apply marginal donor organs or organs donated after cardiac death.

In this study, we proposed a quantitative assessment method for organ function using organ perfusion that can preserve and restore organ function. The method for assessment organ function is a fusion of the ICG fluorescence method, which uses fluorescence in the near-infrared region, and the spatio-temporal temperature flow measurement method. This method provides fundamental knowledge to establish the functional evaluation techniques for organ transplantation. Furthermore, the usefulness of this method are demonstrated.

研究分野：臓器工学

キーワード：機械灌流 臓器移植 臓器工学 機能評価 可視化

1. 研究開始当初の背景

肝臓は、生命維持に不可欠な様々な機能を有しており、かけがえのない臓器の一つである。腎臓透析などの代替医療機器が臨床利用できない肝臓では、移植のみが唯一の治療戦略である。しかしながら、提供臓器数の待機患者数との乖離は世界的な課題であり、国内では移植できない心臓停止後に提供された臓器や臓器機械灌流技術により機能維持・再生を図った臓器の移植などに大きな期待が寄せられている。1つでも多くの臓器を待機患者に届けることが出来れば、その数だけ命をつなぐことが可能となり、これらを支える技術革新が求められている。特に、臓器の機能を積極的に評価する医療技術の確立が求められている。従来は移植の難しい心臓停止後に摘出された肝臓内に灌流液を供給し、臓器の機能を維持、回復さらには診断をおこなう臓器灌流技術(業績 8)の確立が重要である。しかしながら、これらを確立するためには、体外に摘出された肝臓内の詳細な流動特性、代謝特性の評価技術が必要不可欠である。

肝臓の構造は、多様な機能を有し、その構造も非常に複雑である。肝臓には、腸などから栄養を多く含む静脈血の流入する門脈、心臓から酸素を多く含む拍動流として流入する肝動脈の 2 系統が存在し、最終的に肝静脈として流出する構造を有している。さらに肝臓には、消化に重要な胆汁供給のための胆管があり、動脈血と密接に関係し機能していると考えられており、多層な流れ構造が有機的に関係した高度な流体システムとして、肝臓の機能を支えている。しかしながら、肝臓内の流動に関しては、臨床的な知見や解剖学的な評価はなされてきてはいるものの、流体力学的な視点からの検討は十分になされていない。特に、臓器灌流時に重要となる肝臓内に一様に流動が確保されない現象や、虚血後の流動、門脈、肝動脈の流動調整機構、肝動脈と胆管流動との関係、曳糸性を有し特異なレオロジー特性を示す胆汁の特性と流れの関係など多くのことが未解明である。また、微視的な観点からは、肝小葉は類洞とよばれる肝実質細胞、星細胞や内皮細胞により機能化された微小循環構造を有している。門脈から分岐した微小血管、肝動脈の末端が合流し、肝実質細胞間には微小胆管が発達し特徴のある類洞構造を有している。こうした特異な構造により肝臓の重要な機能である代謝や解毒などを低い圧力損失で非常に効果的に行うことが可能である。しかしながら、臓器動態と流動との相互連携機構はいまだ明らかにされておらず、高度な移植医療の技術確立のためには、微視的ならびに巨視的な視点からの臓器機能維持、再生、評価のための肝臓内流動特性と機能の相互連携機構の詳細解明が必要不可欠である。

2. 研究の目的

臓器移植は末期の臓器不全患者にとって唯一の治療戦略であり、いのちをつなぐための重要な医療である。近年では、臓器移植は手術技術の成熟、免疫抑制剤の管理技術の向上によって確立された医療になっている。しかしながら、世界的な提供臓器の不足が唯一の課題となっている。このような中で、移植条件の悪い臓器や心停止後に提供される臓器を移植に適用するための研究が進められており、中でも機械灌流技術による臓器の機能保存ならびに回復、再生への大きな期待がある。さらにこうした臓器を移植につなぐための移植用臓器の評価技術の革新が求められている。

本研究では、移植条件の悪い臓器や心停止後に提供される臓器を想定したブタ肝臓と、臓器機能保存や機能回復が可能な臓器灌流技術を用いて臓器機能の定量的な評価技術を提案し、検証した。臓器の機能評価手法としては臓器深部の肝細胞の代謝も含め可視化可能な近赤外域の蛍光を利用する ICG 蛍光法と臓器内の時空間的温度分布情報から流動を評価する時空間温度流動計測法を融合し、流量や圧力、酸素消費、pH も含めマイクロ、マクロなスケールの計測を融合した臓器内流動代謝融合可視化法を導入した。当該手法によって、臓器内の門脈、肝動脈、肝静脈そして胆管の流動、臓器の代謝特性を評価し、臓器移植のための機能評価技術を確立への基礎的な知見を整理し、その可能性に関して議論した。特に、本研究では血液を用いた体温域での常温機械灌流を用いて、移植時に体内での再灌流がおこなわれた状態での臓器の生化学的な変化も用いることで、本技術の有用性を示した。

3. 研究の方法

実験には 20kg 程度のブタを用い、他の臓器からの液性因子の影響を除去可能な、体外に摘出臓器を臓器機械灌流システムを用い体外での (Ex vivo) を対象として複合流動計測を行った。複合流動計測は、温度差流動分布計測法、ICG 蛍光流動計測法を組み合わせることで、それぞれの欠点を補完し臓器内の詳細流動特性を明らかにすることが可能である。実験条件として、心臓の停止後の時間を制御し、臓器機能の異なる臓器を比較することで実験を行った。具体的には心停止と同時に摘出する機能を維持している温阻血時間の無い臓器 (温阻血時間: WIT0) と心停止 1 時間後に摘出する条件の厳しい臓器 (WIT60) を比較することで、臓器機能の喪失と各種後臓器内不均一流動分布特性の解明、虚血再灌流障害下の流動特性評価、脈管相互制御機構の解

明を行った。なお、灌流液としては、臓器灌流に広く用いられている UW 液、肝細胞培養などで利用される Williams 液、また動物自己血を利用した赤血球含有灌流液を用い、温度帯として、低温、室温、恒温（体温）における詳細流動、代謝特性を明らかにした。

計測は、圧力、流量、温度計測結果と、逸脱酵素、サイトカイン、細胞内物質に着目した生化学的計測を併せて評価することで臓器内流動を明らかにした。

* ICG 蛍光流動計測法

ICG は肝臓の機能評価のために臨床でも利用可能な色素であり、近赤外域に蛍光は長を有することから、組織深部における計測に利用されている。特に、外科手術においては臓器の血行支配、癌転移の確認のためのリンパ節の特定などに用いられている。これらをふまえ、本研究では時間分解能の高いカメラを用い、画像相関法ならびに強度評価法を併せて用いることで、臓器内での時空間的な流動変化を捉えることが可能であり、肝臓組織内に取り込まれた色素は代謝によって強度が変化することから、温度計測情報と併せて評価することでその局所的な代謝特性の評価も可能となる。

* 時空間温度流動計測法

臓器内に代謝には直接的な影響を与えない微小温度変化（ $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）を灌流液に与えることで時空間的温度分布計測情報から詳細な流動を評価する手法である。マクロには臓器内での流動の分布を計測可能であり、前述の ICG 蛍光法と併せて用いることで、臓器の代謝情報を評価可能となり、上述の3つの視点からの解明によって臓器機能の評価が可能となる。

なお、これらの複合化計測により得られた指標と移植後の再灌流状態を模擬可能な血液を用いた体温域での常温機械灌流によって移植後の臓器状態を再現し、評価した。

（各種出願、発表後に詳細公開）

4. 研究成果

（各種出願、発表後に詳細公開）

図1には画像処理技術を援用した評価法の概要⁽¹⁾を示す。実験は体重 20kg 程度のブタから摘出した肝臓を臓器機械灌流装置（図1a）に接続し画像計測をおこなった。機械灌流は、門脈、肝動脈から行い、あわせて、灌流圧、灌流液温度、逸脱酵素、酸素消費量、pH、乳酸、グルコースなど成分分析を行った。画像情報は、温度分布計測においては赤外線温度分布計測装置を用い、連続的に温度分布情報を取得した。また、近赤外蛍光分布計測においては、外科手術や肝機能評価など既に臨床で利用されている蛍光色素のインドシアニンググリーン（ICG）を用い、門脈から供給し、近赤外励起用 LED 照明、近赤外光感知可能高感度カメラ、特定の近赤外波長取得可能なバンドパスフィルタにより蛍光光分布画像（図2b）を取得した。取得された蛍光画像デジタル情報は画素数に応じた行列情報となり、これらを粗量化処理や二値化処理、微分方程式を空間的、時間的な差分処理など AI25) を援用する大規模情報の処理方法を活用し情報を抽出した。ここでは、拡散係数に着目し解析した一例（図1c）を示す。色は強度を示しており、これらの情報をさらに統計的に整理することで物理的な情報に基づく臓器内の拡散・代謝特性の変化に関する定量情報が取得可能である。今後、より詳細な検証が必要ではあるが、これらの定量かつ時空間的な情報を、既存の各種因子と合わせて用いることで、現在の臓器機能評価手法を大きく支援することが可能になると考えている。また、温度差情報は、体温域の NMP 条件のみならず HMP や SNMP など幅広い条件での評価技術として利用できると考えている。肝臓の機械灌流技術が臨床へと展開されていく中で、1つでも多くの臓器を確実に届けていくために迅速かつ低侵襲な新しい評価技術を広げて行こうと考えている。

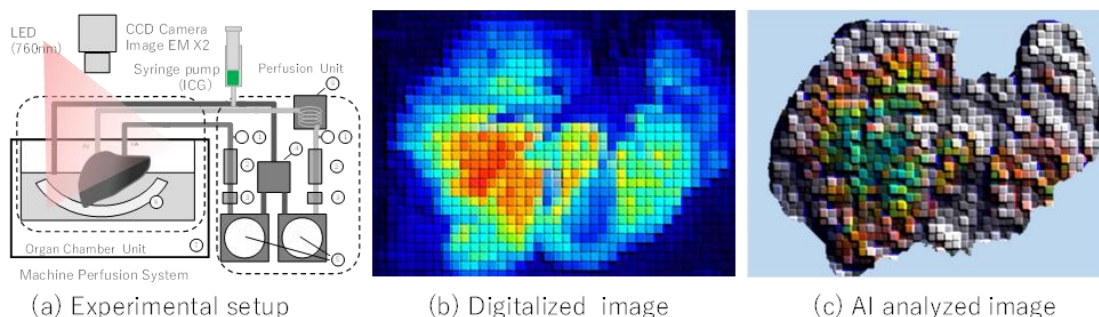


図1 デジタルバイオプシに向けた近赤外画像計測装置と画像処理による情報の抽出（一例）

引用文献（研究成果の一部含む）

- (1) 肝臓機械灌流のための AI 技術を援用したデジタルバイオプシによる流動代謝融合評価手法、小原 弘道、二方 幹弥、佐藤 優樹、中條 哲也、暮地本 宙己、絵野沢 伸、李 小康、松野直徒, Organ Biology, Vol. 28 (2021) No. 2, pp. 142-146

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 小原 弘道、二方 幹弥、佐藤 優樹、中條 哲也、暮地本 宙己、絵野沢 伸、李 小康、松野 直徒	4. 巻 28
2. 論文標題 肝臓機械灌流のためのAI技術を援用したデジタルバイオプシによる流動代謝融合評価手法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Organ Biology	6. 最初と最後の頁 142 ~ 146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11378/organbio.28.142	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishii Daisuke, Matsuno Naoto, Gochi Mikako, Iwata Hiroyoshi, Shonaka Tatsuya, Nishikawa Yuji, Obara Hiromichi, Yokoo Hideki, Furukawa Hiroyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Beneficial effects of end-ischemic oxygenated machine perfusion preservation for split-liver transplantation in recovering graft function and reducing ischemia/reperfusion injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 22608
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-01467-0	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 長谷川 海地、小原 弘道、松野 直徒、中條 哲也、絵野沢 伸、平野 俊彦	4. 巻 27
2. 論文標題 機械学習を援用する臓器機能評価のための肝臓内画像流動計測法	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organ Biology	6. 最初と最後の頁 191 ~ 196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11378/organbio.27.191	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Minh Nguyen Ngoc, Obara Hiromichi, Shimokasa Kenji, Zhu Junfang	4. 巻 56
2. 論文標題 Tensile behavior and extensional viscosity of bile	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biorheology	6. 最初と最後の頁 237 ~ 252
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3233/BIR-190216	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 二方幹弥, 小原弘道, 暮地本宙己, 中條哲也, 李小康, 松野直徒
2. 発表標題 移植医療に向けた近赤外蛍光可視化による臓器内流れの定量評価
3. 学会等名 バイオフィロンティア講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤優樹、小原弘道、山本明槻、二方幹弥、中條哲也、暮地本宙己、Mohd Zin Nur Khatijah、石井大介、岩田浩義、絵野沢伸、李小康、松野直徒
2. 発表標題 時空間温度分布計測を用いた DCD 肝臓の機械灌流による虚血再灌流障害評価
3. 学会等名 臓器保存生物医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小原弘道、山本明槻、佐藤優樹、二方幹弥、中條哲也、暮地本宙己、絵野沢伸、李小康、松野直徒
2. 発表標題 肝臓機械灌流のためのデジタルバイオプシによる流動代謝融合評価手法
3. 学会等名 臓器保存生物医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小原弘道、二方幹弥、中條哲也、暮地本宙己、石井大介、岩田浩義、絵野沢伸、李小康、松野直徒
2. 発表標題 機械灌流における ICG 代謝の時空間変化を用いた肝臓機能評価
3. 学会等名 日本移植学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小原弘道, 佐藤優樹, 中條哲也, 暮地本宙己, 石井大介, 岩田浩義, 絵野沢伸, 李小康, 松野直徒
2. 発表標題 過小肝のための機械灌流中における時空間温度計測による虚血障害予測法の提案
3. 学会等名 日本移植学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中條哲也、小原弘道、佐藤優樹、重政映未、林昌輝、上原大知、暮地本宙己、Mohd Zin Nur Khatijah、大橋牧人、李小康、笠原群生、松野直徒
2. 発表標題 ブタ心停止ドナーに対する摘出前 ECMO および機械灌流保存の有効性
3. 学会等名 日本移植学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小原 弘道、松野 直徒、中條 哲也、暮地本 宙己、李 小康
2. 発表標題 命をとどける移植医療のための臓器機械灌流技術
3. 学会等名 日本機械学会バイオエンジニアリング講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡辺大智, 小原弘道, 松野直徒, 中條哲也
2. 発表標題 移植医療のための臓器機械灌流中の血管応答を用いた肝臓機能評価法
3. 学会等名 日本機械学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤優樹, 小原弘道, 松野直徒, 渡辺大智, 二方 幹弥, 中條哲也, 絵野沢伸, 平野俊彦, 暮地本宙己, 古川博之, 梨井 康
2. 発表標題 臓器機械灌流を活用した温度勾配分布計測による虚血障害予測
3. 学会等名 日本移植学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡辺 大智, 小原 弘道, 佐藤 優樹, 二方 幹弥, 中條哲也、平野俊彦, 絵野沢伸, 梨井 康, 松野 直徒
2. 発表標題 移植医療のための臓器機械灌流による肝動脈圧緩和特性を用いた迅速肝臓機能評価法
3. 学会等名 人工臓器学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hasegawa K., Matsuno N., Enosawa S., Hirano T., Yoshikawa R., Morito N., Obara H
2. 発表標題 Liver viability assessment for machine perfusion with flow distribution visualization methods using a thermography
3. 学会等名 International Liver Transplantation Society Annual Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takafumi Nozaki, Tomoki Morikawa, Hiromichi Obara
2. 発表標題 Liquid-Liquid two layer flow for medical cell therapy
3. 学会等名 International Congress on Multiphase Flow 2019(ICMF 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小原弘道
2. 発表標題 再生医療時代に向けた臓器工学
3. 学会等名 日本機械学会 イブニングセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小原弘道
2. 発表標題 流れで機能をつなぐ臓器工学
3. 学会等名 日本高分子学会武蔵野地区高分子懇話会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 二方 幹弥, 小原弘道, 松野直徒, 渡辺大智, 長谷川海地, 朱イシュン 中條哲也, 絵野沢伸, 平野俊彦, 古川博之
2. 発表標題 ICG イメージングバイオプシによる虚血障害予測手法の検討
3. 学会等名 臓器保存生物医学会講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川海地, 小原弘道, 松野直徒, 二方 幹弥, 渡辺大智, 朱イシュン 中條哲也, 絵野沢伸, 平野俊彦, 古川博之
2. 発表標題 機械学習を援用する肝臓内画像流動計測法に向けた基礎検討
3. 学会等名 臓器保存生物医学会講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小原弘道, 朱蔚駿, 渡辺大智, 長谷川 海地, 二方幹弥, 松野直徒
2. 発表標題 臓器移植・再生医療のための機械灌流における流体工学
3. 学会等名 日本機械学会年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 移植用臓器機能評価のための臓器内近赤外時空間可視化計測
2. 発表標題 小原弘道, 長谷川 海地, 渡辺 大智, 二方 幹弥, 吉川 遼, 松野直徒
3. 学会等名 日本機械学会流体部門講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 灌流バッグ及び灌流装置	発明者 小原弘道・松野直徒	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-170279	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	松野 直徒 (Matsuno Naoto) (00231598)	旭川医科大学・医学部・特任教授 (10107)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------