

令和 5 年 5 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03765

研究課題名(和文) わが国における心停止ドナーからの心臓移植実現のための総合的研究

研究課題名(英文) Development of organ procurement system from cardiac death donors in Japan

研究代表者

戸田 宏一 (TODA, Koichi)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教授

研究者番号：40379235

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：家畜ブタ(ZPP)の脳死モデルを作製し、呼吸停止により心停止とし、Extracorporeal Membrane Oxygenation(ECMO)で全身灌流すると、温阻血時間30分では心拍再開した。高カリウム・低温で灌流すると、心停止から再灌流まで約1時間でも心拍再開した。ZPP 2頭で移植実験を行なった。脳死作製後、呼吸停止により心停止としECMOで灌流を開始した。心停止後、心臓を摘出して71分低温静置し、移植を開始した。心停止後163分で再灌流し、直後に心室細動となったが、抗不整脈薬と電氣的除細動で洞調律となった。高カリウム・低温の全身灌流で臓器保存時間が延長する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国の心臓移植におけるドナー不足を解決する方法の一つに心停止ドナー(Donors after Circulatory Death: DCD)からの臓器提供が挙げられる。海外では既に臨床利用されている技術だが、生命維持装置の中止により心停止を惹起することや、死亡確認から摘出までの時間が5-10分程度と極めて短いことなど、日本でそのまま適用するには解決すべき問題点もある。当研究では、ドナーの心停止後に高カリウム・低温で全身灌流することで、心停止から再灌流までの時間を延長させ得ることを示した。今後、我が国でDCDからの心臓移植を実現する上で、我が国独自の手法として確立できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In a domestic pig model of brain death, cardiac arrest was caused by respiratory arrest. Systemic perfusion with Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) restarted cardiac rhythm after 30 minutes of warm ischemic time. High potassium and hypothermic systemic perfusion may prolong organ preservation time in heart transplantation from donors after circulatory death(DCD). Transplantation experiments were performed in two pigs, with hearts procurement and cold static storage at 33 minutes after cardiac arrest. Transplantation was started at 104 minutes after cardiac arrest and the heart was reperfused in the recipient's body at 163 minutes after cardiac arrest. The heart immediately went into ventricular fibrillation, but was restored to sinus rhythm with antiarrhythmic drug administration and electrical cardioversion.

研究分野：臓器移植

キーワード：心停止ドナー 心臓移植 マージナルドナー 心筋保護

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳死臓器提供件数の多い欧米においてもドナー不足は深刻であり、近年、呼吸を停止して心停止後のドナーからの心臓利用システムを開発する研究が盛んに行われるようになった。我々は、1980年代から、Donor after cardiac death (以下 DCD) からの臓器提供の実験を行い、移植臓器機能が良好に保たれることを示してきたが、遠隔期の効果はいまだ明らかでない。また、心停止を死の定義としているわが国では、その心臓を他人の体内で再拍動させることの倫理的課題や、respirator off が許されておらず長期の死線期を経るため心筋障害が著明なことなど、独自に解決せねばならない課題も多い。本研究の目的は、Respirator off の有無に分けて DCD からの心および他臓器の保存法を開発すること、DCD からの心臓移植の倫理的問題を解決すること、臨床応用可能な多臓器提供システムを確立することである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、わが国における DCD から心臓を利用するための多臓器提供システムを確立することである。具体的には、Respirator off の有無に分けて DCD からの心臓保存法を開発すること、同時に心臓以外の臓器も移植可能な状態になるような保存法を開発すること、心停止が死の定義とされたドナーからの心臓移植の倫理的問題を解決すること、最終的にはわが国で臨床応用可能な多臓器提供システムを確立することである。

3. 研究の方法

1) Beagle 犬またはブタを用いた無呼吸下心停止ドナーからの多臓器摘出モデルの作成 (2020年度) DCD からの Percutaneous cardiopulmonary support (PCPS)を用いた多臓器提供システムの確立 前治療として、ベラパミル、PGI2A、プロプラノロール、FUT-175 を投与し、パンクロニウム投与後に人工呼吸器を停止して、心停止とする。30 分間放置後に、大腿動静脈に送血管、脱血管を挿入し、経皮的体外循環装置 (PCPS) を用いて全身臓器再生を行う。PCPS 開始 45 分後に開胸し心臓に到達、同時に開腹し、大動脈に心筋保護液注入用の、肺動脈に肺保存液注入用の、門脈に肝臓保存液注入用のカテーテルをそれぞれ挿入する。PCPS 停止後に下大静脈を結紮離断し、血液は PCPS 回路内に貯血する。続いて、上行大動脈を遮断し心筋保護液 (ROE 液、250ml) 肺動脈から肺保存液 (Modified Collins 液 500ml) 門脈から肝臓液 (Viaspan 11) をそれぞれ注入して各臓器を冷却する。心臓と肺を型どおり摘出し、保存液に浸漬し氷冷する。大動脈遮断後、PCPS の送血ラインを利用して腹部臓器を冷却 Viaspan 11 で灌流し、十分に冷却されたのを確認し、肝、脾、腎を摘出する。以上の検討を行いつつ、ポータブルで充填液量の少ない PCPS 装置を設計制作する。摘出臓器の移植 心臓、肝臓は同所性に、肺は左肺を同所性に、腎、脾は異所性に移植する。移植後の機能評価 心臓では心拍出量、preload recruitable stroke work、Emax を、肺では血液ガス分析、肺血管抵抗、肝臓では胆汁成分・分泌量、ATP、脾臓では耐糖能、血中インスリン濃度、腎臓では尿量、クレアチニンクリアランスなどを測定する。同時に、摘出時、移植後に臓器の一部を採取し、組織の保存状態を検討する。摘出臓器の viability 評価法の検討 虚血再灌流障害が起これば、各臓器表面の血流が低下すると考えられ、血流を観察すれば臓器の viability、血行を評価できると考える。同時に、組織内 pH を測定し、移植後の機能との相関を検討する。肝臓では胆汁分泌量を、肺では肺静脈内血液ガス分析を、腎臓では尿量を測定し、これらの指標で viability を評価できるかを検討する。

4. 研究成果

2020 年度は家畜ブタ (体重約 60kg) を用いて脳死モデル作成を試みた。小穿頭バルーンカテーテルを挿入、バルーンを拡張させることで脳ヘルニアおよび脳幹圧迫を惹起させ脳死モデルを作製することに成功した。その後、低酸素により心停止とした後、0 分、5 分、15 分、30 分、60 分と温阻血時間をおき、体外式膜型人工肺 (Extracorporeal Membrane Oxygenation: ECMO) により全身臓器灌流を再開させると同時に開胸し心臓の摘出に移った。各 1 頭ずつの検討ではあるが、0 分、5 分、15 分、30 分では再灌流開始後に自己心拍再開が確認でき、温阻血時間 60 分では自己心拍の再開は確認できなかった。追試を要するものの、60kg 級の家畜ブタにおける温阻血許容時間は概ね 30 分未満と考えられた。

2021 年度は 2020 年度で作製に成功した豚 (ZPP) の脳死モデルを作製し、人工呼吸器を停止し心停止を惹起した。大腿動静脈に留置していたシースから ECMO の送血管・脱血管を挿入し、ECMO での全身灌流を開始した。

2020 年度と異なり、2021 年度は高カリウム・低温の灌流液を用いることにより、心停止状態を

維持すると同時に心筋保護を試みた。ECMOでの全身灌流を開始すると同時に胸骨正中切開し心臓に到達した。実際に心臓移植を行うことは予算上困難であったため、心臓移植の模擬モデルとして、開胸後に上行大動脈をクランプし大動脈基部から cardioplegia を注入、その間に全身灌流液の K 値を下げて復温し、心臓以外の臓器を灌流した。その後、上行大動脈のクランプを解除し、ECMO で常温全身灌流を続けることで心臓移植後の状況を模した。

予算上、3 頭での検討であったが、3 頭中 2 頭で自己心拍の再開が確認できた。2020 年度の実験では温阻血時間が 30 分を超えると、再灌流によっても自己心拍が再開しなかったが、今回、灌流液を工夫することで心停止から心臓の再灌流再開までの時間はおよそ 1 時間に延長することができた。

灌流液の組成や全身灌流中の心腔内の減圧方法を検討することで、より良好な自己心拍再開を得られる可能性が示唆された。

2022 年度は心停止後、extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) で高カリウムと低体温を維持することで、ドナーの心停止から移植までの時間を延長できるか検討した。ECMO で高カリウム血症と低体温を維持しながら胸骨正中切開を行った。上行大動脈をクランプした後、ECMO での全身灌流を継続して血清カリウム値の補正と復温を行ない、心臓移植を模して大動脈のクランプを解除した。心拍が再開するかどうかを確認するために 3 頭の国産豚 (Zenno Premium Pig : ZPP) を使用した。3 頭の平均体重は 59.9kg であった。心停止後、呼吸停止に至るまでは平均 7.7 分であった。心停止後、ECMO による高カリウムと低体温での灌流開始までの時間は平均 9.3 分であった。上行大動脈のクランプから血清カリウム値の補正と復温後にクランプを解除するまでの平均時間は 41.7 分であった。

また、ZPP 2 頭を用いて移植実験を行なった。ドナーブタは体重 61.2kg、レシピエントブタは体重 59.2kg であった。ドナーブタは呼吸停止から 11 分後に心停止となり、心停止から 5 分後に ECMO による灌流を開始した。その後、心停止から 33 分後に心臓を摘出し、低温静置保存した。ドナーの心臓摘出と並行してレシピエントブタに麻酔をかけ、ドナー心臓の心停止から 104 分後、ドナー心臓の摘出から 67 分後に移植を開始した。ドナー心臓を心停止後 163 分、臓器摘出後から 130 分、移植開始後から 41 分でレシピエント体内で再灌流した。再灌流直後に心室細動となり、10J で 3 回、20J で 1 回電気的除細動したが、洞調律には復帰しなかった。マグネソール、アミオダロン投与後、20J で 2 回電気的除細動し洞調律に復帰した。

心停止ドナーからの心臓移植においては、高カリウム、低体温で臓器保存時間を延長できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	塚田 敬義 (Tsukada Yukiyoshi) (30257894)	岐阜大学・大学院医学系研究科・教授 (13701)	
研究分担者	福島 教偉 (Fukushima Norihide) (30263247)	千里金蘭大学・看護学部・教授 (34439)	
研究分担者	川村 匡 (Kawamura Masashi) (70583011)	大阪大学・大学院医学系研究科・特任講師(常勤) (14401)	
研究分担者	吉川 泰司 (Yoshikawa Yasushi) (40570594)	鳥取大学・医学部・講師 (15101)	

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
---------	---------