

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17575

研究課題名(和文)心停止ドナー肝移植の確立に向けて - 灌流装置によるグラフト評価と臓器再生 -

研究課題名(英文)The Effects of Short-term Subnormothermic Perfusion After Cold Preservation on Liver Grafts From Donors After Circulatory Death

研究代表者

柿崎 裕太(Kakizaki, Yuta)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：80838037

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):(1)研究開始当初の背景:肝移植は確立された治療法であるが、臓器提供者(ドナー)不足が問題となっている。(2)研究の目的:移植適応境界領域である心停止ドナー肝を用いた酸素化灌流プロトコールとリアルタイム臓器評価法を確立し、臨床応用可能な灌流装置の開発とドナー不足解消を目的とした。(3)研究の方法:ブタを用い、心拍動下、あるいは心停止下に摘出した肝臓に酸素化灌流を行い検討した。(4)研究成果:室温酸素化灌流を行うことで臓器ならびに肝細胞の維持が可能であることが示唆された。新規灌流装置は灌流圧等のモニタリングが可能であり、移植可能限界にあるグラフトの評価法の確立につながる可能性が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、移植適応境界領域であるマージナル肝移植冷保存後酸素化灌流プロトコールとリアルタイム臓器評価法を確立し、臨床応用可能な灌流装置の開発とマージナルドナー肝移植によるドナー不足解消を目的とした。今回の検討では、室温酸素化灌流を行うことで心停止後においても臓器状態ならびに肝細胞の維持が可能であることが示唆された。新規灌流装置は灌流圧等のモニタリングが可能であり、移植可能限界にあるグラフトの評価法確立につながる可能性が期待される。

研究成果の概要(英文):(1) Background: Liver transplantation is a well-established therapy, but the shortage of organ donors has become a problem. (2) Purpose: The purpose of this study was to establish an oxygenated perfusion protocol and real-time organ evaluation method using cardiac arrest donor livers, which are in the borderline area of transplantation indications, to develop a perfusion device that can be applied clinically, and to solve the donor shortage. (3) Methods: Pigs were used to perform oxygenated perfusion in livers removed under cardiac pulsation or cardiac arrest. (4) Results: The results suggest that room-temperature oxygenated perfusion can maintain organs and hepatocytes. The new perfusion device is capable of monitoring perfusion pressure and other parameters, and is expected to lead to the establishment of an evaluation method for grafts that are at the limit of transplantation potential.

研究分野: 心停止ドナー肝移植

キーワード: 心停止ドナー肝移植 機械灌流

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肝移植は確立された治療法であるが、移植臓器提供者(ドナー)不足が問題となっている。これを解決する手段として、心停止ドナーなど移植適応境界領域であるマージナルドナーからの肝移植が検討されているが、温阻血再灌流障害のため移植困難であるケースが多く臨床応用に至っていない。

### 2. 研究の目的

申請者は 2015 年より肝移植前短時間酸素化灌流の至適条件検証研究を行い、冷保存後移植前の短時間室温酸素化灌流の有効性を明らかにしている (Kakizaki, et al. Transplantation. 2018)。そこで心停止ドナー肝に対して臓器摘出冷却保存後、短時間室温酸素化灌流を行い、灌流中にリアルタイムで肝グラフトの Viability の改善を評価できれば、従来破棄されていたドナー肝の移植をより安全に施行できると考えた。本研究では **“マージナル肝移植冷保存後酸素化灌流プロトコールとリアルタイム臓器評価法”** を **確立し、臨床応用可能な灌流装置の開発とマージナルドナー肝移植によるドナー不足解消を目指す**ことを目的とした。

### 3. 研究の方法

BW 27Kg - 32Kg の F1 ブタを用い、心拍動下に肝臓摘出をする心拍動群 (Heart-beating; HB 群)、および 20 分の心停止下に肝臓を摘出する心停止群 (Donation after cardiac death; DCD 群) の 2 群に関し検討を行った。いずれも肝臓摘出後は 2 時間の冷保存後、灌流装置を用い 120 分の室温酸素化灌流を行った。灌流圧は動脈圧 70mmHg、門脈圧 20mmHg とし、灌流液は Krebs-Henseleit 液を用いた。検討項目は灌流液中の AST、ALT、LDH および胆汁産生量とし、それぞれ灌流開始後 30min、60min、90min、120min で測定を行った。

また、心停止ドナー肝の酸素化灌流による肝細胞の機能評価を行った。心拍動下に摘出した肝臓を分離した肝細胞 (HB 群) と、心停止後 30 分間の温阻血を経て摘出した肝臓から分離した肝細胞 (DCD 群) を比較した。また、DCD 群と、DCD 群を分離前に 30 分間機械灌流した後分離した肝細胞 (P-DCD 群) を比較した。

### 4. 研究成果

胆汁産生量は 30min において HB 群が DCD 群に比べ有意差をもって多かった ( $17.87 \pm 8.80$  vs.  $4.91 \pm 2.54$ ,  $P=0.03$ ) もの、60min、90min、120min では有意差を認めなかった。また胆汁産生量は 30min ( $12.68 \pm 9.85$ )、60min ( $23.47 \pm 28.24$ )、90min ( $31.21 \pm 34.19$ )、120min ( $26.98 \pm 22.93$ ) と 90min でピークを迎える傾向にあることがわかった。また灌流液中の AST、ALT、LDH は 30min、60min、90min、120min とすべてにおいて AST ( $P=0.029$ ,  $0.0073$ ,  $0.030$ ,  $0.030$ )、ALT ( $P=0.032$ ,  $0.015$ ,  $0.0033$ ,  $0.034$ )、LDH ( $P=0.022$ ,  $0.0034$ ,  $0.017$ ,  $0.018$ ) と DCD 群で有意差をもって高値であったものの、時間当たりの変化率ではいずれも両群間で有意差を認めなかった。

また組織評価では微小循環の評価として類洞開存度を検討し、アポトーシス検出目的に TUNEL 染色を行い、陽性細胞数を検証した。類洞開存度および TUNEL 陽性細胞数において、DCD 群は 90min で HB 群と有意な差を認めなかった。

肝細胞評価では DCD 群では肝細胞収量が優位に減少したが、肝細胞収量は P-DCD 群で優位に多く、ADP/ATP 比（エネルギー状態の評価）は P-DCD 群で有意に低く、室温酸素化灌流により肝細胞のエネルギー状態改善が示唆された。

今回の検討では、室温酸素化灌流を行うことで心停止後においても臓器状態ならびに肝細胞の維持が可能であることが示唆された。新規灌流装置は灌流圧等のモニタリングが可能であり、移植可能限界にあるグラフトの Viability の評価法の確立につながる可能性が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 西牧宏泰、宮城重人、柏館俊明、戸子台和哲、中西渉、藤尾淳、太田嶺人、齋藤純健、亀井尚、海野倫明
2. 発表標題 新規灌流装置を用いた肝移植グラフトに対する酸素化灌流における至適条件の検討
3. 学会等名 第39回日本肝移植学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naruhito Takido, Shigehito Miyagi, Toshiaki Kashiwadate, Hiroyasu Nishimaki, Koji Miyazawa, Kazuaki Tokodai, Atsushi Fujio, Kengo Sasaki, Michiaki Unno, Takashi Kamei
2. 発表標題 Investigation of the optimal temperature for machine perfusion for liver transplantation in donors after cardiac death
3. 学会等名 The Transplantation Society 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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