

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 28 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591877

研究課題名(和文)境界グラフトに対する一酸化窒素を用いた臓器保存戦略

研究課題名(英文) Impact of nitric oxide with oxygen gas persufflation on marginal graft in liver transplantation

研究代表者

八木 真太郎 (Yagi, Shintaro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60447969

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ブタにおいて30%程度の過小グラフト肝移植モデルを作成し、臓器保存時の一酸化窒素(NO)ガス投与の有効性について検討した。冷保存中に酸素ガスとNOガスを肝静脈より逆行性に低圧注入した。単純浸水冷保存群と比較して、NOガスおよび酸素ガス投与群では、1週間生存する個体があり、生存率は改善する傾向が認められた。また移植再灌流後の門脈圧-中心静脈圧較差は低い傾向が認められた。

研究成果の概要(英文)：We established small-for-size graft liver transplantation model in pig, which is 30% partial liver graft volume using right-lateral lobe. We investigated the effect of nitric oxide (NO) gas during liver preservation on small-for-size livers after transplantation. Gaseous oxygen with NO (40 ppm) was insufflated into the livers through the suprahepatic vena cava during cold storage (VSNOP group). Livers in Control group was preserved by simple cold storage. One recipients in VSNOP group survived for 7 days, and the survival rates in VSNOP group tended to be better compared with control group. Pressure gradient between portal vein and inferior vena cava of livers preserved by VSNOP tended to be lower compared with the control livers just behind portal reperfusion.

研究分野：臓器保存

キーワード：肝移植 一酸化窒素 過少グラフト

1. 研究開始当初の背景

現在の肝移植医療においては慢性的なドナー不足のため、いわゆる境界グラフトの移植が、ドナー不足を解消する手段として期待されている。従来から移植肝に対して、冷保存時に肝静脈から逆行性に酸素を投与しながら保存する方法：Venous Systemic Oxygen Persufflation (VSOP) が移植肝の viability(臓器機能が保たれている状態)を改善する事が動物・臨床研究で確認されている。一方で肺高血圧の治療や、心臓並びに肺移植において虚血再灌流障害の軽減を目的とした NO 投与の有効性が報告されている(*Am J Respir Crit Care Med* 1997 156: 454-8)。境界グラフトとは、過少グラフトや心停止ドナーなど提供者となれるぎりぎりの臓器をさすが、われわれは最近、ラットの境界グラフト移植モデルにおいて、冷保存時に VSOP を応用して NO ガスを投与したところ、TNF 産生・iNOS 発現が抑制、eNOS 発現が促進され、著明な虚血再灌流障害の抑制効果を確認した。過少グラフトなどの境界グラフトに対する NO ガスを投与しながらの保存方法は非常に有用と考えられたが、臨床で使用するためには大動物を用いた研究でその安全性・有用性を検討する必要がある。

2. 研究の目的

当該研究では、臨床前段階として大動物(ブタ)を用いた肝移植モデルを作成して、臓器保存時に一酸化窒素(NO)ガスを投与すること、更に新しい臓器保存液 POLYSOL を使用することにより、境界グラフトの viability を向上させる可能性について検討することを目的とする。

3. 研究の方法

ブタの過小グラフト肝移植モデルを作成した。外側右葉をグラフトとし、内側

右葉 + 内側左葉 + 外側左葉切除をドナーにて施行した(図1)。レシピエントでは無肝期に門脈 - 頸静脈シャントを使用した。全肝摘出後に肝上下大静脈、肝下大静脈、門脈、肝動脈、胆管をそれぞれ端々吻合再建した。

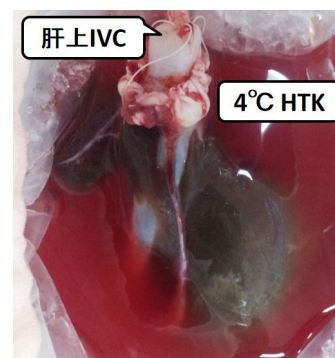
図 1



(1) 4 HTK による単純冷保存 (CS) 群 (n=4) と VSOP+NO (VSNOP) 群 (n=5) を比較した。

(2) VSOP+NO は、4 HTK 液浸水条件下に肝上 IVC にチューピングし、酸素ガスと NO ガス (40ppm) を注入した(図2)。注入圧は 12mmHg では類洞破壊が認められたため、8mmHg とした。

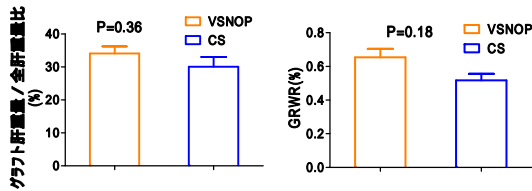
図 2



4. 研究成果

(1) グラフト肝重量 / 全肝重量比 (CS, $30.0 \pm 2.9\%$ vs. VSNOP, $34.1 \pm 2.1\%$; $p=0.36$)、グラフト肝重量 / レシピエント体重比 (CS, $0.52 \pm 0.04\%$ vs. VSNOP, $0.65 \pm 0.05\%$; $p=0.18$) は有意差を認めなかった(図3)。

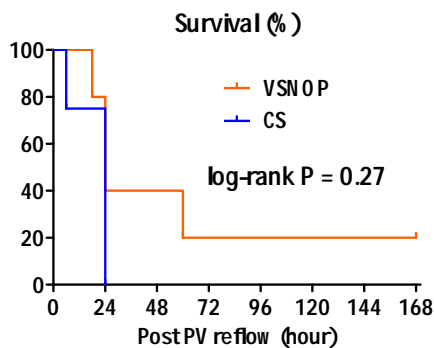
図 3



(2)冷阻血時間(CS, 279 ± 9 分 vs. VSNOP, 285 ± 9 分; p=0.52)は有意差を認めなかった。VSNOP 群の VSOP+NO 保存時間は約 3 時間 (179 ± 16 分) であった。

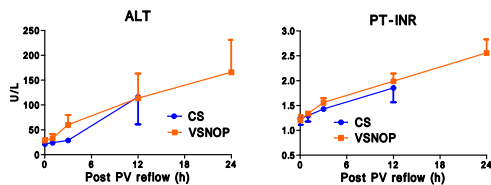
(3) CS 群は全例 24 時間以内に死亡した。VSNOP 群で 1 週間生存を 1 例認めた (Log-rank: p=0.27) (図 4)

図 4



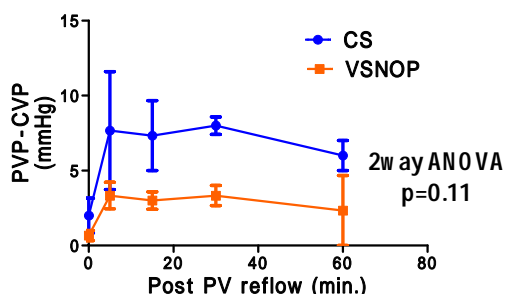
(4) 肝移植後の AST/ALT、PT-INR、T-Bil に有意差は認められなかった (図 5)

図 5



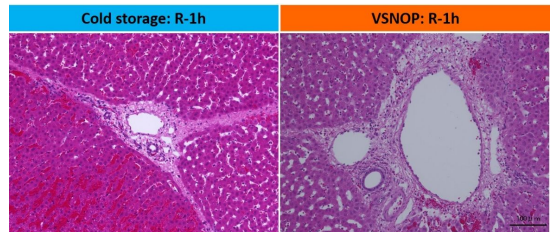
(5) 再灌流後の門脈圧 - 中心静脈圧較差は VSNOP 群で低い傾向にあった (p=0.11) (図 6)

図 6



(6) 肝再生に有意差は認められなかったが、1 週間生存例では 206%の著明なグラフト重量増加が認められた。再灌流後の肝組織では両群において門脈過灌流によると考えられる門脈域の出血が認められた (図 7)

図 7



5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 30 件)

1. Iida, T., Yagi, S (4 人中 2 番目) *Significance of (99m)Tc-GSA liver scintigraphy in liver surgery and transplantation.* Ann Transl Med, 2015. **3**(2): p. 16.
2. Hori, T. Yagi, S (10 人中 9 番目) *Ultraviolet-induced alloantigen-specific immunosuppression in transplant immunity.* World J Transplant, 2015. **5**(1): p. 11-8.
3. Srinivasan, P.K., Yagi, S (7 人中 2 番目) *Impact of oxygen free radicals in rat partial liver transplantation.* J Surg Res, 2014. **191**(2): p. 469-75.
4. Okuno, M., Yagi, S (20 人中 7 番目) *Indication for neoadjuvant chemotherapy in patients with colorectal liver metastases based on a nomogram that predicts disease-free survival.* J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2014. **21**(12): p. 881-8.
5. Kageyama, S., Yagi, S (10 人中 2 番目) *Graft reconditioning with nitric oxide gas in rat liver transplantation from cardiac death donors.* Transplantation, 2014. **97**(6): p. 618-25.

6. Kadaba Srinivasan, P., Yagi, S (8人中6番目) *Hydroxyectoine ameliorates preservation injury in deceased after cardiac death donors in experimental liver grafts*. *Ann Transplant*, 2014. **19**: p. 165-73.
7. Iwasaki, J., Yagi, S (11人中5番目) *Donor morbidity in right and left hemiliver living donor liver transplantation: the impact of graft selection and surgical innovation on donor safety*. *Transpl Int*, 2014. **27**(11): p. 1205-13.
8. Iida, T., Yagi, S (13人中3番目) *Hepatic arterial complications in adult living donor liver transplant recipients: a single-center experience of 673 cases*. *Clin Transplant*, 2014. **28**(9): p. 1025-30.
9. Hori, T., Yagi, S (15人中2番目) *How to successfully resect 70 % of the liver in pigs to model an extended hepatectomy with an insufficient remnant or liver transplantation with a small-for-size graft*. *Surg Today*, 2014. **44**(11): p. 2201-7.
10. Hori, T., Yagi, S (11人中3番目) *How do transplant surgeons accomplish optimal portal venous flow during living-donor liver transplantation? Noninvasive measurement of indocyanine green elimination rate*. *Surg Innov*, 2014. **21**(1): p. 43-51.
11. Endo, K., Yagi, S (10人中3番目) *Impact of preoperative uncontrollable hepatic hydrothorax and massive ascites in adult liver transplantation*. *Surg Today*, 2014. **44**(12): p. 2293-9.
12. Yagi, S (3人中1番目) *Orthotopic Liver Transplantation in Rats*, in *Experimental Organ Transplantation*, H. Chen and S. Qian, Editors. 2013, NOVA Publisher. p. 191-208.
13. Yagi, S (7人中1番目) *A novel organ preservation for small partial liver transplantations in rats: venous systemic oxygen persufflation with nitric oxide gas*. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 2013. **13**(1): p. 222-8.
14. Nagai, K., Yagi, S (4人中2番目) *Surgical procedures for a rat model of partial orthotopic liver transplantation with hepatic arterial reconstruction*. *Journal of visualized experiments : JoVE*, 2013(73): p. e4376.
15. Nagai, K., Yagi, S (6人中2番目) *Impact of venous-systemic oxygen persufflation with nitric oxide gas on steatotic grafts after partial orthotopic liver transplantation in rats*. *Transplantation*, 2013. **95**(1): p. 78-84.
16. Kaido, T., Yagi, S (10人中8番目) *Impact of sarcopenia on survival in patients undergoing living donor liver transplantation*. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 2013. **13**(6): p. 1549-56.
17. Hori, T., Yagi, S (8人中4番目) *Malignant pheochromocytoma: Hepatectomy for liver metastases*. *World J Gastrointest Surg*, 2013. **5**(11): p. 309-13.
18. Chihara, Y., Yagi, S (13人中6番目) *Predictive factors for reintubation following noninvasive ventilation in patients with respiratory complications after living donor liver transplantation*. *PLoS One*, 2013. **8**(12): p. e81417.
19. Yamagiwa, K., Yagi, S (15人中11番目) *Evaluation of Biliary Secretary Immunoglobulin-A in Recipients of Living-Donor Liver Transplantation*. *J Liver*, 2012.

- 1(2).
20. Yagi, S (2 人中 1 番目) *Small-for-size syndrome in living donor liver transplantation*. Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBPD INT, 2012. **11**(6): p. 570-6.
 21. Yagi, S (7 人中 1 番目) *Effect of portal haemodynamics on liver graft and intestinal mucosa after small-for-size liver transplantation in swine*. European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes, 2012. **48**(3): p. 163-70.
 22. Srinivasan, P.K., Yagi, S (7 人中 2 番目) *Impact of venous systemic oxygen persufflation supplemented with nitric oxide gas on cold-stored, warm ischemia-damaged experimental liver grafts*. Liver Transpl, 2012. **18**(2): p. 219-25.
 23. Shehata, M.R., Yagi, S (15 人中 2 番目) *Pediatric liver transplantation using reduced and hyper-reduced left lateral segment grafts: a 10-year single-center experience*. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons, 2012. **12**(12): p. 3406-13.
 24. Shehata, M., Yagi, S (9 人中 2 番目) *Use of recipient's left colic artery for arterial reconstruction during liver transplantation in Alagille syndrome with vasculopathy: a case report*. Transplantation, 2012. **27**(93): p. 20-21.
 25. Raut, V., Yagi, S (12 人中 10 番目) *Splenectomy does not offer immunological benefits in ABO-incompatible liver transplantation with a preoperative rituximab*. Transplantation, 2012. **93**(1): p. 99-105.
 26. Mori, A., Yagi, S (10 人中 6 番目) *Standard of hepatic vein reconstruction with patch plasty using native portal vein in adult living donor liver transplantation*. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 2012.
 27. Kaido, T., Yagi, S (7 人中 6 番目) *Effects of Post-transplant Enteral Nutrition with an Immunomodulating Diet Containing Hydrolyzed Whey Peptide after Liver Transplantation*. World journal of surgery, 2012.
 28. Kaido, T., Yagi, S (8 人中 7 番目) *Pre- and perioperative factors affecting infection after living donor liver transplantation*. Nutrition, 2012. **28**(11-12): p. 1104-8.
 29. Kaido, T., Yagi, S (8 人中 7 番目) *Living donor liver transplantation for recurrent hepatocellular carcinoma after liver resection*. Surgery, 2012. **151**(1): p. 55-60.
 30. Hori, T., Yagi, S (10 人中 2 番目) *Surgical text for orthotopic liver transplantation model with small-for-size graft in the pig: key techniques and pitfalls*. Ann Gastroenterol, 2012. **25**(2): p. 147-161.
- 〔学会発表〕(計 66 件)
- Yagi, S. A novel organ preservation technique for small-for-size graft in liver transplantation: Venous Systemic Nitric Oxide with Oxygen Gaseous Persufflation The 12th Congress of the international Society for Experimental Microsurgery 2014 年 4 月 21 日 京都
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
- 出願状況 (計 0 件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

八木 真太郎 (Shintaro Yagi)
京都大学 医学(系)研究科(研究院)
助教
研究者番号: 60447969

(2)研究分担者

小川 晃平 (Kohei Ogawa)
京都大学 医学(系)研究科(研究院)
助教
研究者番号: 10359789

小倉 靖弘 (Yasuhiro Ogura)
名古屋大学・医学部附属病院
准教授
研究者番号: 20335251

海道 利実 (Toshimi Kaido)
京都大学 医学(系)研究科(研究院)
准教授
研究者番号: 80314194

上本 伸二 (Shinji Uemoto)
京都大学 医学(系)研究科(研究院)
教授
研究者番号: 40252449