

平成 30 年 9 月 11 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03922

研究課題名(和文) 未来医療にむけた臓器機能維持，再生，評価のための肝臓内流動特性の解明

研究課題名(英文) Evaluation of Liver flow dynamics for organ preservation, recovery and assessment to develop future medical devices

研究代表者

小原 弘道 (obara, Hiromichi)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：80305424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 16,200,000円

研究成果の概要(和文)：未来医療技術開発のためには臓器機能を維持し，回復，再生，評価する技術が重要となる。特に，心臓停止後に提供される臓器を新たな医療技術により移植につなぐことができれば，移植提供臓器不足の課題を抱える現代の医療にとってその貢献は計り知れない。機械灌流法は臓器の機能を維持し，回復，再生を図る技術として大きな期待があり，さらに臓器の機能評価を可能にするものである。しかしながら，こうした技術を推進するための知見，特に体外で灌流される肝臓に関する研究は十分になされていなかった。そこで本研究では，微視的，巨視的な視点からの臓器機能維持，再生，評価にむけた肝臓内灌流による流動特性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Technology for an organ preservation, recovery and assessment is very important to develop future medical devices to enhance organ quality for transplantation. The use of organ donated after cardiac death (DCD) treated with the future medical device would greatly contribute to expansion of the donor organ pool. Machine perfusion (MP) is a promising technology to preserve the organ function and improve the organ quality of the DCD. Furthermore, organ assessment with the MP is effective to treat DCD organ. Although several perfusion technologies under various conditions have been suggested, optimum condition and adequate technology are still debated. In particular, there are few studies of the ex vivo liver flow dynamics under several MP condition. In this study, we evaluated the the ex vivo liver flow dynamics using micro and macro experimental approaches and numerical analysis.

研究分野：流体工学，医用工学，臓器工学

キーワード：臓器移植 臓器工学 機械灌流 機能評価 灌流保存

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。腎臓透析装置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り、未来型の医療技術の確立が求められている。未来医療として、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)や臓器内に界面活性剤を灌流することで脱細胞化し、幹細胞由来の細胞を臓器内に灌流し再細胞化する技術など様々な研究がすすめられている。しかしながら、これらを確立するためには、肝臓内の体内、体外での流動特性の解明が必要不可欠である。

肝臓の構造は、多様な機能を効率的に実現するために、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、それぞれの仕組みで分岐し、肝臓機能をつかさどる肝小葉内において機能的に合流、中心静脈に集まる。これらが再度集合し、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構造があり、動脈血と密接に関係し機能していると考えられている。これらが有機的に関係し、肝臓の機能を支えていると考えられているが、この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、流動学的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。たとえば、移植医療においては心臓停止後の血流が停止する虚血により血流に障害が生まれる虚血再灌流障害が発生する。この虚血再灌流障害の、生化学的な議論は進められているものの流動も含む議論は不十分であり、虚血後の再灌流時の流動特性評価が求められている。しかしながら、臓器動態と流動との相互関係はいまだ明らかにされておらず、高度な移植医療、期待の高い再生医療をはじめとする未来医療の技術確立のためには、微視的な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の解明が必要不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では、高度な移植医療、期待の高い再生医療をはじめとする未来医療の技術確立のために、微視的なならびに巨視的な視点からの臓器機能維持、再生、評価のための以下の3項目に着目し肝臓内灌流による流動特性を解明する。

(A)臓器内不均一流動分布特性の解明

(B)血再灌流障害下の流動特性評価

(C)脈管相互制御機構の解明

3. 研究の方法

研究は、ヒトの肝臓に構造が近く、研究成果を臨床へのすみやかな展開が期待される、ブタ肝臓を主に用いて実験を行った。実験は、門脈、肝動脈、肝静脈、胆管の流動特性に着目した巨視的 (Macro) な研究、肝臓機能の基礎単位である流動学的にも興味深い類洞構造に着目した微視的 (Micro) な視点から研究を実施した。研究手段として、生体内での臓器灌流、生体外の機械灌流装置による機械灌流における複合流動計測による実験的手法と解析と局所モデル解析を組み合わせた解析的手法を有機的に併用し実施した。

[体内灌流実験・体外灌流実験]

実験には 20kg 程度のブタを用い、実験を行った。体内での流動特性を検証する体内灌流 (In vivo)、他の臓器からの液性因子の影響を除去可能な、体外に摘出した臓器を機械灌流システムを用いる体外機械灌流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、超音波流速分布計測、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。次世代医療に実験条件として、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う。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。

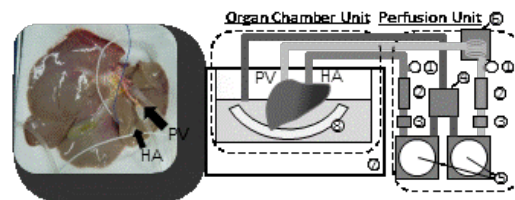


図1 機械灌流システム概要

4. 研究結果

本研究では、臓器内不均一流動分布特性の解明、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に着目し、研究をおこなった。特に、心停止後の障害を有する臓器の総記機能を評価し、移植の適用拡大に期待の高

い室温灌流技術をはじめ、いくつかの灌流技術を適用し、それらの機械灌流時の流動に着目しそれらを相互評価し流動特性評価の重要性を検証し議論した。

図1は血液流動の評価の一例としてとして血液再灌流時の動脈圧変化を示す。ここでは、心臓停止後に摘出される条件の悪い臓器を想定した温阻血時間60分(WIT60)と条件の良好な移植適用可能な臓器に対応する温阻血時間0分のであるWIT0を用い、室温灌流保存(SNMP)と現在臨床で利用されている氷温の保存液中に浸漬する単純冷却保存のもの動脈圧の変化に関して比較したものである。当然のことながら、条件の良い臓器(WIT0)においては、その動脈圧も低く押さえられており良好な流動が維持されていることが考えられる。一方、障害を有する臓器であるWIT60の結果においては、単純冷却により保存されていた群では著しい圧力増加が示されており、流動異常が生じていることがわかる。すなわち、移植時の初期臓器機能不全としてもしられる虚血再灌流障害が惹起されていることが考えられる。このような機能劣化の可能性のある臓器摘出条件ではあるが、室温で機械灌流を行った群においては、流動は確保されており、臓器の機能が維持されていると考えることができる。このように流動特性に着目し、様々な角度から検証をおこない、移植臓器適用拡大に向けた流動的な視点からの知見を得た。詳細は下記の発表論文をご参照ください。

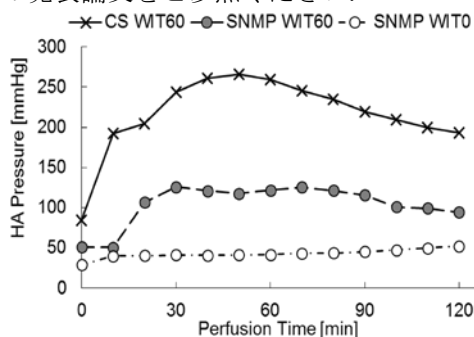


図2 血液再灌流時の動脈圧変化

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9件)

1) Oxygen consumption during hypothermic and subnormothermic machine perfusions of porcine liver grafts after cardiac death, Noriyuki Morito, Hiromichi Obara, Naoto Matsuno, Shin Enosawa, Hiroyuki Furukawa, Journal of Artificial Organs(2018)(in Press)

2) Evaluation using an isolated reperfusion model for porcine liver donated after cardiac death preserved with oxygenated hypothermic machine perfusion, Ryo Yoshikawa, Naoto Matsuno, Noriyuki Morito, Mikako Gouchi, Masahide Otani, Hiroyuki Takahashi, Tatsuya Shonaka, Yuji Nishikawa, Shin Enosawa,

Toshihiko

Hirano, Hiroyuki Furukawa, Hiromichi Obara, Annals of transplantation in Press (2018)

3) Ex vivo reperfusion model to evaluate the utility of machine preservation for porcine liver donated after cardiac death, Ryo Yoshikawa, Hiromichi Obara, Naoto Matsuno, Noriyuki Morito, Mikako Gouchi, Masahide Otani, Tatsuya Shonaka, Hiroyuki Takahashi, Shin Enosawa, Toshihiko Hirano, Hiroyuki Furukawa, Transplantation Proceedings, in Press(2018)

4) The application of perfusate with human-derived oxygen carrier solution under subnormothermic machine perfusion for donation after cardiac death (DCD) liver grafts in pigs, Tatsuya Shonaka, Naoto Matsuno, Hiromichi Obara, Ryo Yoshikawa, Yuji Nishikawa, Mikako Gouchi, Masahide Otani, Hiroyuki Takahashi, Hiroshi Azuma, Hiromi Sakai, Hiroyuki Furukawa, Transplantation Proceedings (in Press) (2018)

5) Optimum perfusate volume of purified subnormothermic machine perfusion for porcine liver donated after cardiac death, Hiromichi Obara, Noriyuki Morito, Naoto Matsuno, Ryo Yoshikawa, Mikako Gouchi, Masahide Otani, Tatsuya Shonak, Hiroyuki Takahashi, Shin Enosawa, Toshihiko Hirano, Hiroyuk Furukawa, Transplantation Proceedings, (Accepted) (2018)

6) 心停止ドナーからのブタ腎保存における酸素化復温灌流保存方法の有用性の研究, 森井湧太, 松野直徒, 森戸規之, 絵野沢伸, 平野俊彦, 古川博之, 小原弘道, 移植 (2018)

Vol.53, No.1, pp33-39

[学会発表] (計30件)

アジア移植学会, 日本移植学会, 臓器保存生物医学会, 日本機械学会年次大会, 日本機械学会バイオエンジニアリング講演会ほか

[図書] (計0件)

[産業財産権]

該当無し

[その他]

ホームページ等

<http://www.comp.tmu.ac.jp/obaken/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者 首都大学東京・理工学研究科・准教授, 小原 弘道

(Hiromichi OBARA) 研究者番号: 80305424

(2) 研究分担者 旭川医科大学・医学部・特任教授・松野直徒 (Naoto Matsuno)

研究者番号: 00231598

(3) 連携研究者 国立成育医療研究センター・研究所・室長・絵野沢伸 (Shin Enosawa)

研究者番号: 40232962

(4) 連携研究者 東京薬科大学・薬学部・教授・平野俊彦 (Toshihiko HIRANO)

研究者番号: 90173252