

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11196

研究課題名(和文) 微弱磁場冷却装置を使用した新しい移植腎保存法の基礎的研究

研究課題名(英文) Hypothermic preservation of porcine kidney graft in a variable magnetic field

研究代表者

木村 圭一 (Kimura, Keiichi)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：50372488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、実際の食材の長期保存に使用されている微弱磁場環境下冷却装置を用い、従来法に比べ安定的でより確実な新たな腎単純冷保存法を模索・確立することである。ブタを用いた。全身麻酔下に片腎を摘出した。4℃のUW液(University of Wisconsin液)250mlにて腎灌流したのち、冷却UW液で満たした容器に摘出腎を移し、微弱磁場環境下冷却装置(Cells Alive System)による4℃保存群、CAS0℃保存群、CASなし4℃保存群(通常保存群)の3群に分け、摘出腎を保存した。24時間保存後に再灌流を行い保存腎の機能評価を行ったが、統計学的有意差は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究では正常腎ドナーモデルにおいてもマージナルドナーモデル(温阻血障害モデル)においても3群間(保存方法の違い)による有意差は認められなかった。その理由としては、温阻血時間が短かった、保存時間が24時間と長時間であった、微弱磁場が腎深部まで及ばなかった、などが考えられる。今後の課題として、それら条件を再考する必要があると思われる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we evaluated the effectiveness of hypothermic preservation of porcine kidney graft in a variable magnetic field. Unilateral nephrectomy was done under general anesthesia. After perfusion at 250 ml of 4°C UW solution, the grafts were subjected to either 4°C in a variable magnetic field, 0°C in a variable magnetic field, or simple 4°C storage. Reperfusion was performed after 24 hours of storage and we evaluated the function of the preserved kidneys, but no statistically significant difference was obtained.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：移植腎保存 微弱磁場環境下冷却装置 Cells Alive System

1. 研究開始当初の背景

わが国の腎移植数は先進国中ではもとより、発展途上国にも及ばないほど少数である[1]。ドナー源拡大は世界共通の課題であり、欧米では脳死ドナーのみではなく、マージナルドナーグラフトを用いた移植が増加している。

心停止ドナー腎を用いる場合の温阻血時間は60分、総阻血時間は48時間が限度とされ、これらを超えて移植されれば腎機能がまったく発現しない、いわゆる primary non-function kidney や虚血再灌流障害の発生頻度が高まる。一方で、現在の一般的な腎保存法である4^度での単純冷却保存では、移植後の良好な腎機能を得るためには総阻血時間が20時間以内の移植が推奨されており、腎移植を制限する一要因となっている。上述のマージナルドナーグラフトであれば、時間的制約はさらに厳しくなり、より確実に安定的な臓器保存法の開発が望まれている。

臓器保存法として、単純冷保存法と臓器灌流法がある。単純冷却法の発展は、Euro-Collins液、UW液、Celsior液といった保存液の開発・発展のみに依存しており、保存装置や保存機器に全く進展は見られていない。臓器を特殊灌流することなく、一定環境下に長期保存させるには、エネルギー代謝をほぼ零とする0^度に近い温度で保存する必要がある。しかし0^度に臓器温が近づくと、水分凍結による物理的細胞障害、脱水作用、蛋白変性などにより不可逆的組織障害が生じ、移植臓器としては全く使用できないものとなる。この問題解決には特殊蛋白などを使用することなく、組織を凍結させることのない冷却法が必要となってくる。現在、微弱磁場環境下冷却装置(Cells Alive System、以下CAS：株式会社アビー)は、実際の食材の長期保存に使用されている。また、卵子などの細胞の長期安定保存への医用応用が検討されている。この冷却法の原理は、パルス磁場と複数の弱いエネルギー(電波、音波、疎密波、イオン、輻射、熱、物理化学的振動)とを組み合わせた複合エネルギー(CASエネルギー)を対象物に作用させることで、その物質内にマイクロ共鳴微振動(ゆらぎ)が増幅(確率共鳴)されて起こり、水分子を振動させながら水分の氷結晶化を抑え、過冷却状態を維持する冷却装置である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、実際の食材の長期保存に使用されている微弱磁場環境下冷却装置(Cells Alive System)を用い、従来法に比べ安定的でより確実な新たな臓器単純冷保存法を模索・確立することである。

3. 研究の方法

(1) 30-40kgのブタを使用した。全身麻酔下に後腹膜アプローチにて片腎を露出した。正常腎ドナーモデル(Non-Ischemia: NI)は直ちに、マージナルドナーモデル(温阻血障害モデル、Warm Ischemia: WI)は腎動静脈クランプ後30分した後、腎を摘出した。腎動脈にカニューレーションを行い、4^度のUW液(University of Wisconsin液)250mlにて腎灌流したのち、冷却UW液で満たした容器に摘出腎を移し、微弱磁場環境下冷却装置(Cells Alive System)による4^度保存群(A群、n=3)、CAS0^度保存群(B群、n=3)、CASなし4^度保存群(通常保存群)(C群、n=3)の3群に分け、摘出腎を保存した。

(2) 小児人工心肺回路を改良した腎灌流装置を作成し、24時間の保存の後、腎動脈および静脈にカニューレーションを行い、供血ブタから得た血液を用い36^{時間}での持続腎灌流を行った。灌流直後、1、2、4、8時間後にそれぞれ動脈血ガス分析、尿量、血清クレアチニン値、血清AST値を測定すると共に、クレアチニンクリアランス、酸素消費量、%Na⁺分画排泄率を算出し、保存腎機能の評価を行った。

(3) 灌流後にそれぞれ針生検を行った。ホルマリン固定後、パラフィン切片を作成、HE染色による組織学的評価を行った。

4. 研究成果

(1) 動脈血ガス分析

(a) 正常腎ドナーモデル(Non-Ischemia: NI)

灌流直後のpHはA群(CASによる4^度保存群): 7.48±0.01、B群(CAS0^度保存群): 7.49±0.00、C群(CASなし4^度保存群): 7.48±0.01であった。pHは経時的に漸減し、灌流8時間後にはそれぞれ7.32±0.03、7.33±0.02、7.33±0.02であった。3群間に有意差を認めなかった。

同様にNa⁺値、K⁺値、Cl⁻値、乳酸値についても経時的測定値につきそれぞれ比較検討を行ったが、3群間に有意差を認めなかった。

(b) マージナルドナーモデル(温阻血障害モデル、Warm Ischemia: WI)

灌流直後のpHはA群: 7.49±0.01、B群: 7.49±0.00、C群: 7.48±0.01であった。pHは経時的に漸減し、灌流8時間後にはそれぞれ7.28±0.03、7.29±0.01、7.28±0.02

であった。3群間に有意差を認めなかった。

同様に Na^+ 値、 K^+ 値、 Cl^- 値、乳酸値についても経時的測定値につきそれぞれ検討を行ったが、3群間に有意差は認められなかった。

(2) 腎機能

(a) 正常腎ドナーモデル (Non-Ischemia: NI)

尿量は灌流 1 時間後がピークとなり、A 群: $21 \pm 3.6 \text{ ml/hr}$ 、B 群: $23 \pm 4.2 \text{ ml/hr}$ 、C 群: $20 \pm 3.1 \text{ ml/hr}$ であった。経時的に漸減し、灌流 8 時間後にはそれぞれ $17 \pm 5.5 \text{ ml/hr}$ 、 $16 \pm 4.8 \text{ ml/hr}$ 、 $15 \pm 5.0 \text{ ml/hr}$ であった。3群間に有意差は認められなかった。

灌流 1 時間後の $\% \text{Na}^+$ 分画排泄率は、A 群 $14.1 \pm 2.9\%$ 、B 群: $12.9 \pm 4.1\%$ 、C 群: $15.0 \pm 3.2\%$ であった。3群間に有意差は認められなかった。

(b) マージナルドナーモデル (温阻血障害モデル、Warm Ischemia: WI)

尿量は灌流 1 時間後がピークとなり、A 群: $17 \pm 4.5 \text{ ml/hr}$ 、B 群: $15 \pm 3.3 \text{ ml/hr}$ 、C 群: $14 \pm 3.9 \text{ ml/hr}$ であった。経時的に漸減し、灌流 8 時間後にはそれぞれ $11 \pm 5.9 \text{ ml/hr}$ 、 $13 \pm 4.8 \text{ ml/hr}$ 、 $10 \pm 3.0 \text{ ml/hr}$ であった。3群間に有意差は認められなかった。

灌流 1 時間後の $\% \text{Na}^+$ 分画排泄率は、A 群 $19.1 \pm 3.9\%$ 、B 群: $17.9 \pm 2.1\%$ 、C 群: $19.5 \pm 2.4\%$ であった。3群間に有意差は認められなかった。

同様に血清クレアチニン値、血清 AST 値、クレアチニンクリアランスについても経時的測定値につきそれぞれ検討を行ったが、3群間に有意差は認められなかった。

(3) 組織学的評価

尿細管障害(拡張、破壊)や細胞質空胞化はマージナルドナーモデルの 4 保存群 (WI-C 群) に強く認められる傾向にあった。

今回の研究では正常腎ドナーモデル (Non-Ischemia: NI) においてもマージナルドナーモデル (温阻血障害モデル、Warm Ischemia: WI) においても 3 群間 (保存方法の違い) による有意差は認められなかった。

その理由としては、温阻血時間が短かった、保存時間が 24 時間と長時間であった、微弱磁場環境が腎深部まで及ばなかった、などが考えられる。今後の課題として、それら条件を再考する必要があると思われる。

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	飯野 賢治 (Iino Kenji) (60595453)	金沢大学・附属病院・講師 (13301)	
研究分担者	加藤 寛城 (Kato Hiroki) (20733843)	金沢大学・医薬保健研究域医学系・協力研究員 (13301)	

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