

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10215

研究課題名(和文) Ex-vivo Heart Perfusionを用いた心臓移植の臨床応用

研究課題名(英文) Heart Transplantation using Ex-vivo Heart Perfusion

研究代表者

小谷 恭弘 (KOTANI, YASUHIRO)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：90534678

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：現在、心臓移植のドナーとなりうるのは脳死に陥った患者様(脳死ドナー)であるが、その発生頻度は少なくドナー不足が問題となっている。代替として心停止を起こした患者様がドナーとなる場合(心停止ドナー)があるが、心臓は脳死や心停止になった際に同時に障害を受けてしまい、心臓が臓器移植に耐えるかどうか不明であるという問題がある。本研究では、心停止ドナーからの心臓移植の実現を目指して、どのように心臓を保護すれば、一度心停止になった心臓が蘇生されるかを調べた。結果として、適切な心筋への血液や酸素の供給(調節再還流)を行うことで、心停止前と同等の心臓の機能まで回復することが示された。

研究成果の概要(英文)：The shortage of donor pool remains a problem in heart transplantation. The alternative donor source is the non-heart beating donor; however, it is still unknown that how the heart function is recovered after the massive insult from the cardiac arrest and this makes difficult to use the heart from the non-heart beating donor. The purpose of this project is to see whether or not the heart is recovered from cardiac death.

We found that the heart can be recovered from cardiac death when the appropriate heart preservation is done by means of controlled reperfusion. Another key finding is that the heart can be evaluated before transplantation by ex-vivo apparatus. The blood test looking at lactate level is found to be a predict marker for adequate recovery. Taken together, our finding suggests that the heart from non-heart beating donor can be used for the heart transplantation when the heart is reperfused with appropriate manner.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：心臓移植 再還流 心停止ドナー

1. 研究開始当初の背景

心臓移植は、重症心不全に対する最終的な治療手段であるが、現在の日本での最大の課題はドナー不足であり移植待機中に亡くなられる患者さんや海外渡航による移植例が後を断たない。近年、新たなドナープールとして注目されていた心停止ドナー (Non-heart-beating donor: NHBD) からの心臓移植の成功例が、海外において散見されるようになったが NHBD から蘇生されたドナー心の心機能の評価方法が確立しておらず、心機能が完全に回復しないまま移植された場合には、移植後に再度、補助循環が必要になるなどの問題が残っている。そこで、本研究では動物実験を用いて、ドナー心の蘇生に最も適した体外循環法 (再灌流法) を確立することとともに、蘇生後の心機能を正確に評価できる方法を開発することを目的に研究を進めていく。

2. 研究の目的

本研究では、ドナー候補でありながら、心機能の問題から移植を断念せざるをえなかった NHBD からのドナー心を、心移植に使用できるようにするために、心機能を最も効果的に回復させる体外循環法 (再灌流法) を確立するとともに、蘇生後 (移植前) に心機能がどの程度回復したかを正確に評価できる評価法を開発することを目的とする。また 移植時に摘出されるドナー心由来の心臓内幹細胞の投与が移植心の心機能に与える影響について検討する。

3. 研究の方法

ブタを用いて心停止ドナーを作成し、その心臓を Ex-vivo 装置 (図 1) にて蘇生する。す

で肺移植の分野では臨床応用されている Ex vivo perfusion と呼ばれる体外還流システムを心臓に応用し、低心機能の心臓を調節再還流、また機能の回復の程度を心拍出量の定量により評価する事で、移植にふさわしくない心臓が、調節再還流法により回復し、移植に適した心機能を有するかどうか判定を行う。蘇生に関しては、血液心筋保護液を用いて再還流を行うことで虚血再還流障害を抑制し心機能の改善を図る。調節再還流法は以前よりわれわれが行なっている方法に準じ、まず 20 分の白血球除去血液を用いた血液心筋保護液を 20 分間、40mmHg の灌流圧で開始する。引き続き 20 分の白血球除去血液を用いて血液での再灌流を行う。20 分後から、復温を行い、36 にするとともに、灌流圧も 60mmHg に上げる。この初期調節再還流を通常移植に行われる血液再還流に先だて行う事により、虚血再還流障害の軽減と心機能の改善につながる。蘇生の後に Ex-vivo 装置で心機能の評価を行うことで、移植前に心機能が十分回復したかどうかを評価する。

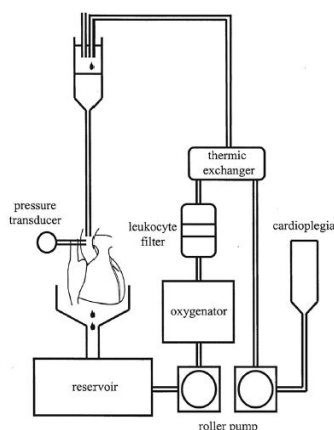


図 1. Ex-vivo 心臓還流装置による心臓の調節再還流

また、ドナー心から採取された心筋細胞は 連携研究者が開発した方法で自己心臓内幹細胞の純化精製及び培養を行う (*J Cell Sci.* 2007;120:1791)。培養した心筋内幹細胞は下記の定められた投与時期に、大腿

動脈より微小カニューレを挿入し、移植した心臓の冠動脈に到達させる。心筋内幹細胞投与後 1、2、3、4 週間後に、心エコーによる心機能の評価を行う。また、H&E 染色および Masson-Trichrome 染色を用いて心筋の繊維化を評価する。

4 . 研究成果

本研究ではブタを用いて目的のごとく実験を行ったが、呼吸停止によって心停止し 30 分経過したのちに適切な血液心筋保護で再還流を行うことにより（調節再還流）、心臓を蘇生することが可能であることが証明された。この中で、右室機能をコンダクタンスカテーテルにより Emax を測定し、蘇生後の心機能が心停止前とほぼ同等であることが証明された。またもう一つの右室機能の指標である心拍出量も蘇生後も維持されていることが示された。心臓を蘇生する段階で、冠動脈の還流のための血液心筋保護液中の乳酸値は適切な再灌流法により漸減することが示され（図 2）心筋代謝の面からも、再灌流の重要性が示されるとともに、乳酸値の低下が再還流の至適時間を知る上で重要であることがわかった。言い換えれば、再還流を行っていく段階で、乳酸値の低下をもって再還流が十分行われたことと判断できると考えられた。心停止ドナーからの心臓移植を臨床応用するには、摘出した心臓が移植に耐えうる心機能を有するかを植え込みする前に判断することが重要であるが、指標の一つとして乳酸値が使用できる可能性が示された意義は大きいと考える。

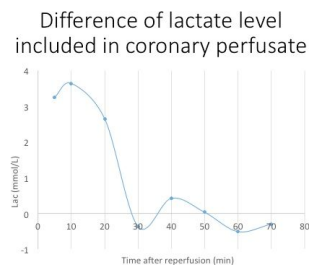
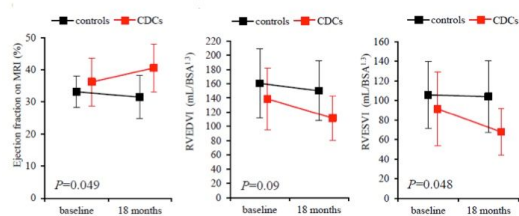


図 2 . 冠動脈血中の乳酸値の推移

また、移植心に対して心臓由来の自己幹細胞を冠動脈に注入して心機能の改善を図ることを目標としたが、まずは小児単心室患者の重症心不全に対して、自己幹細胞の冠動脈注入により心機能の改善を認めるか評価した。結果として、心機能は3ヶ月目から改善し、18ヶ月後でも維持されることが証明された(図3)。この結果より、心臓由来の自己幹細胞移植は、臨床で安全に実施でき、かつ心不全に対する有効な治療法であることが証明された。今後、心臓移植への幹細胞移植の応用が期待される結果となった。

Cardiac function analysis by cMRI in CDC-treated and control patients



Between-group (control vs. CDC treated) comparisons, 2-way ANOVA was used to analyze the categorical independent variables between group and the time interaction term within group.

図 3 . 自己幹細胞移植後 12 ヶ月目での心機能の改善

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 1 件)

Ishigami S, Ohtsuki S, Eitoku T, Ousaka D, Kondo M, Kurita Y, Hirai K, Fukushima Y, Baba K, Goto T, Horio N, Kobayashi J, Kuroko Y, Kotani Y, Arai S, Iwasaki T, Sato

S, Kasahara S, Sano S, Oh H. Intracoronary Cardiac Progenitor Cells in Single Ventricle Physiology: The PERSEUS (Cardiac Progenitor Cell Infusion to Treat Univentricular Heart Disease) Randomized Phase 2 Trial. Circ Res. 2017 Mar 31;120(7):1162-1173 査読あり

〔学会発表〕(計 1件)

石神修大、後藤拓弥、逢坂大樹、大月審一、小谷恭弘、笠原真悟、佐野俊二、王英正
小児単心室症に対する心筋再生医療における治療反応予測因子の検討と5年間に及ぶ長期追跡調査報告、Five-year follow-up results of cardiac progenitor cell therapy in children with congenital heart diseases、2016年7月6日、第52回小児循環器学会、東京

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小谷 恭弘 (KOTANI, Yasuhiro)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・心臓血管外科・助教

研究者番号：90534678

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

王 英正 (OH, Hidemasa)

岡山大学病院・新医療研究開発センター・再生医療部・教授

研究者番号：50372579

(4) 研究協力者

()