

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：10107

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20510

研究課題名（和文）体外式膜型人工肺（ECMO）を用いた移植臓器有効利用の研究

研究課題名（英文）Study of effective utilization of transplanted organs using extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)

研究代表者

大原 みずほ (OHARA, Mizuho)

旭川医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：80596304

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：心停止ドナーは臓器提供者不足を解決する一つの方法である。心停止したブタに体外式人工肺（VA-ECMO）を装着し、さらに摘出後、4時間の単純冷却保存および機械灌流保存を行った。上記2群および心停止45分後にECMOを装着せず4時間の低温機械灌流を行った群の3群を比較し、ECMOおよび機械灌流保存の組み合わせが良好な臓器保存状態を維持するために有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、長時間の温阻血後に常温でECMOを使用することで、肝細胞障害が著明に改善された。臓器移植の現場においては、ドナーとレシピエントの病院間の輸送のために一定時間の低温保存を余儀なくされているが、ここで低温機械灌流を行うことで、ECMOの利点を高め、また灌流中に移植前評価が可能となる。ECMOと低温機械灌流を組み合わせた保存により、心停止ドナー臓器において、臓器機能を回復させ、虚血再灌流障害を抑制する可能性があり、ドナー不足解消への一つの解決策となり得る。

研究成果の概要（英文）：The use of grafts from donors after cardiac death (DCD) would greatly contribute to the expansion of the donor organ pool. After cardiac arrest, Porcine livers were divided into three groups. In group 1, non-in situ ECMO and grafts were preserved by hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE). In group2, in situ ECMO and grafts were preserved by HOPE. In group 3, in situ ECMO and grafts were preserved by cold storage. The combined use of in situ ECMO and HOPE is essential for the functional recovery of DCD liver grafts.

研究分野：消化器外科学

キーワード：心停止ドナー 膜型人工肺 臓器保存 虚血再灌流障害 肝移植

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心停止ドナーなど条件の厳しい臓器に頼らざるをえない世界の情勢においては、保存にとどまらず、臓器機能の「回復」さらには「蘇生」を視野に入れた医療技術が必要である。このために、長時間心停止後の臓器を可及的に回復させ、機能を診断し虚血再灌流障害を抑制するシステムは可能か?

2. 研究の目的

臓器摘出前に温度管理を行い酸素投与することは、臓器回復の鍵になる可能性があるが、学術的解析による有効性を示すものは文献上極めて少ない。人工心肺併用体外循環装置を用いた灌流時の温度管理、酸素供給を考えることで、機能を保持するだけでなく、積極的に臓器の機能回復・蘇生を行い、臓器単離型灌流保存装置により移植前の臓器機能評価を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

**心停止ドナーを温度管理により人工心肺装置にて再灌流、臓器障害の抑制法の検討 (Fig 1)**

プタを使用し、心停止 45 分後に人工心肺装置 (ECMO) による体外循環流を 1 時間行い、肝臓を摘出し、さらに 4 時間の単純冷却もしくは機械灌流保存を行った。保存液の単離型臓器灌流装置による機能評価により、保存温度、灌流流量・圧力その他、灌流中の臓器からの逸脱 酵素。組織 (光顕、電顕) などを精査する。酸化ストレスマーカーMDA、アポトーシス、組織内サイトカイン、組織 ATP なども精査する。

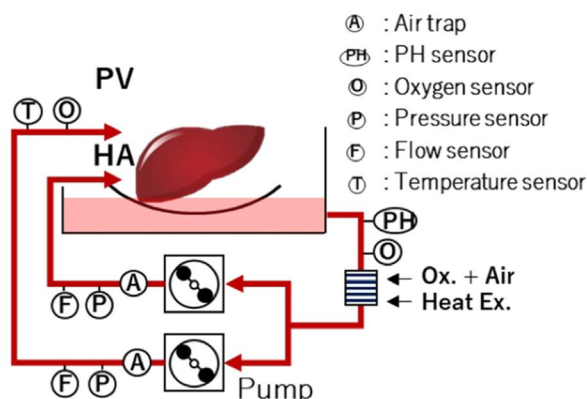


Fig 1. Machine perfusion device. HA, hepatic artery; PH, pH sensor; PV, portal vein.

**心停止後ドナーを用いた移植を模擬した実験：臨床用灌流保存装置を用いた前臨床試験 (Fig 2)**

Group1: 心停止温阻血 45 分 + 低温機械灌流 4 時間

Group2: 心停止温阻血 45 分 + ECMO60 分 + 機械灌流保存 4 時間

Group3: 心停止温阻血 45 分 + ECMO60 分 + 単純冷却保存 (UW-液)4 時間

保存後、すべての肝臓は自己血を用いた分離再灌流装置で 2 時間灌流し、移植前評価を行った。

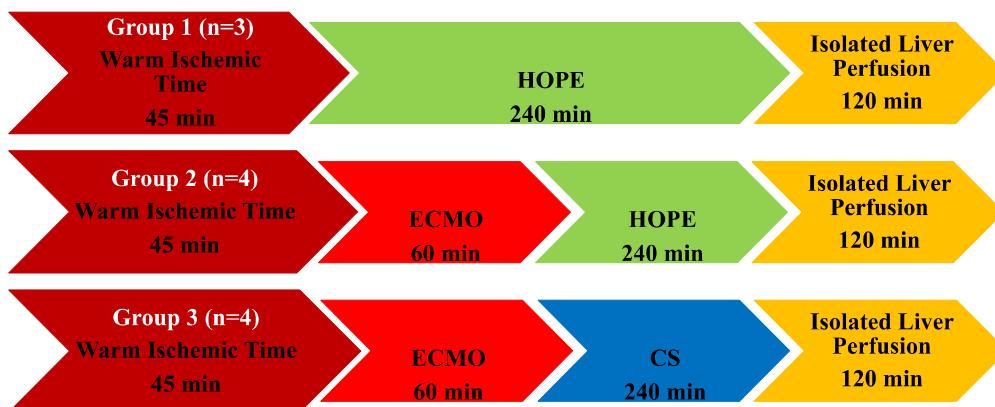
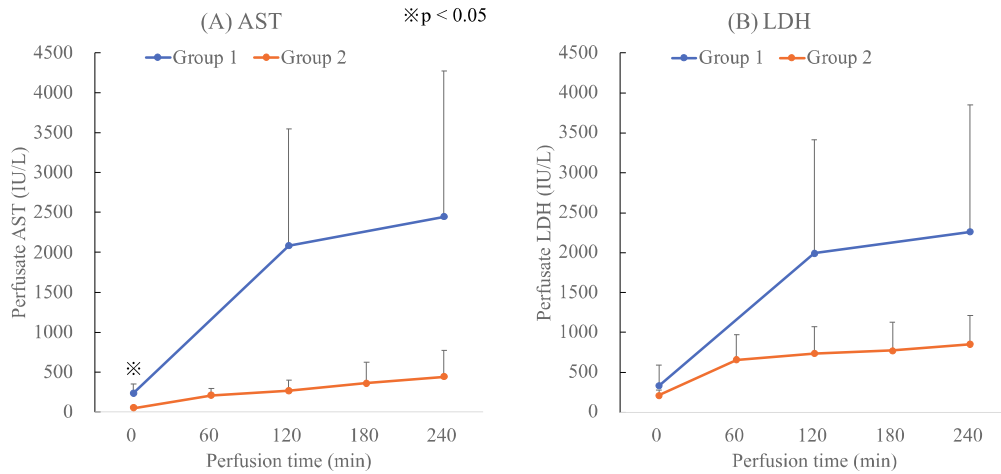


Fig 2. Experimental study design. CS, cold storage; EMCO, extracorporeal membrane oxygenation; HOPE, hypothermic oxygenate machine perfusion.

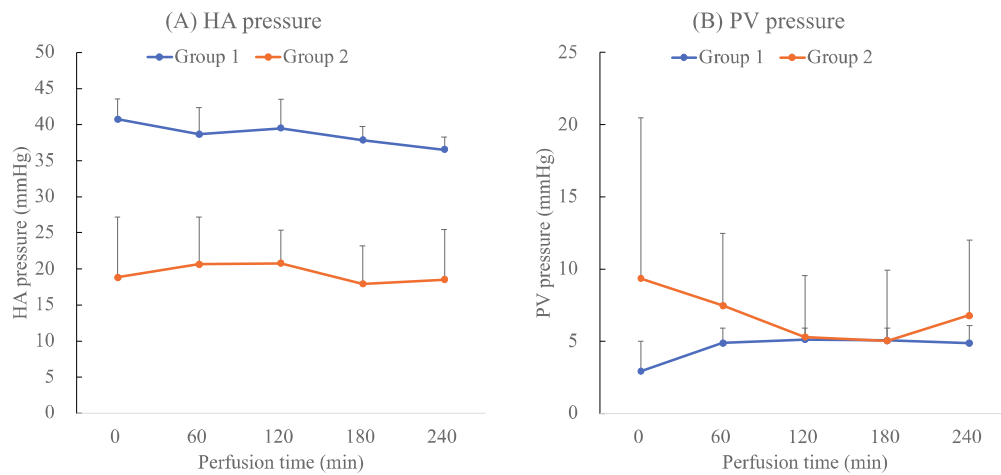
#### 4. 研究成果

低温機械灌流 (HOPE) 開始時点で、Group2 の AST 値は Group1 より有意に低く、その後も Group2 で低い傾向にあり、HOPE 終了時も同様の結果であった。LDH 値はグループ間で差がなかった。(Fig 3)



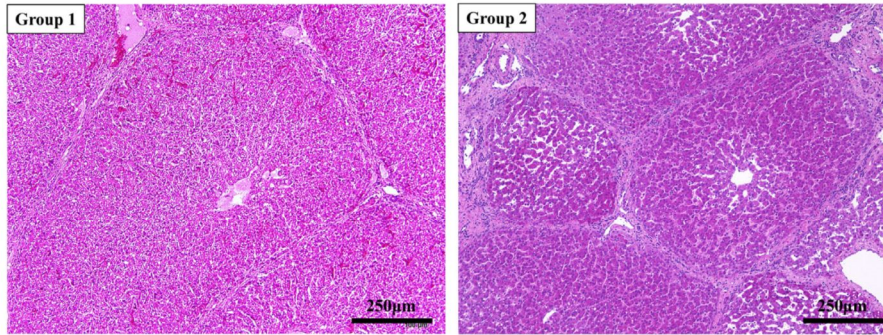
**Fig 3.** Live enzymes during hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE). **(A)** Aspartate aminotransferase (AST) (IU/L/100 g liver) and **(B)** lactate dehydrogenase (IU/L/100 g liver) values (mean  $\pm$  SD) in the perfusate. At start-up of HOPE, the AST levels in group 2 ( $n = 4$ ) were significantly lower than in group 1 ( $n = 3$ ) ( $50.5 \pm 9.2$  vs  $235.7 \pm 112.5$  IU/L;  $P = .0323$ ). Thereafter, AST levels in group 2 tended to be lower than that in group 1. At the end of HOPE, the AST levels were  $442.5 \pm 330.1$  vs  $2446.0 \pm 1829.1$  IU/L;  $P = .0571$ . AST, aspartate aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase.

Group2 の肝動脈圧は Group1 より低い傾向にあったが、門脈圧には差がなかった。(Fig 4)



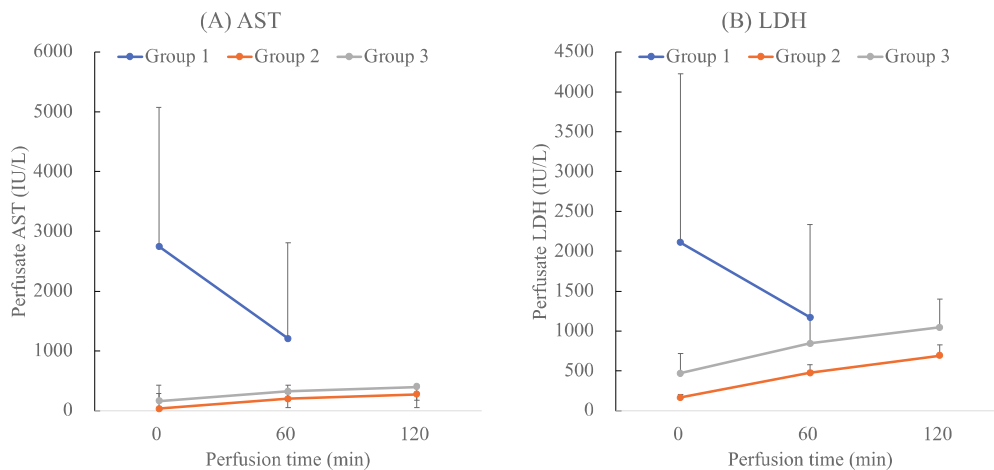
**Fig 4.** Blood pressure during hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE). **(A)** Hepatic artery (HA) pressure (mm Hg) and **(B)** portal vein pressure (mm Hg) values (mean  $\pm$  SD). The HA pressure in group 2 ( $n = 4$ ) tended to be lower than that in group 1 ( $n = 3$ ) during HOPE. At the end of HOPE, the HA pressure was  $18.5 \pm 6.9$  vs  $36.5 \pm 1.8$  mm Hg;  $P = .0571$ . HA, hepatic artery; PV, portal vein.

低温機械灌流後の肝組織について、H-E 染色所見では Group2 と比較して Group1 で類洞のうっ血と肝細胞の空胞化が著明であった。(Fig 5)



**Fig 5.** Histopathological findings after hypothermic oxygenated machine perfusion. Hematoxylin–eosin staining findings after hypothermic oxygenated machine perfusion showed more massive sinusoidal congestion and hepatocyte cytoplasmic vacuolization in group 1 (n = 3) than group 2 (n = 4).

分離再灌流開始時には、Group2 の AST および LDH は Group1 に比べて低い傾向にあったが、Group2 と Group3 には差がなかった。



**Fig 6.** Live enzymes during isolated reperfusion model. **(A)** Aspartate aminotransferase (IU/L/100 g liver) and **(B)** lactate dehydrogenase (IU/L/100 g liver) values (mean  $\pm$  SD) in the perfusate. At the start-up of isolated reperfusion model, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase levels in group 2 (n = 4) tended to be lower than those in group 1 (n = 3) ( $35.0 \pm 39.0$  vs  $2746.7 \pm 2332.2$  IU/L;  $P = .0571$  and  $165.0 \pm 38.4$  vs  $2261.0 \pm 1585.8$  IU/L;  $P = .0571$ , respectively). They did not differ compared to group 3 (n = 4). AST, aspartate aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase.

これらの結果より、長時間の温阻血後に常温で ECMO を使用することで、肝細胞障害が著明に改善された。臓器移植の現場においては、ドナーとレシピエントの病院間の輸送のために一定時間の低温保存を余儀なくされているが、ここで低温機械灌流を行うことで、ECMO の利点を高め、また灌流中に移植前評価が可能となる。ECMO と低温機械灌流を組み合わせた保存により、心停止ドナー臓器において、臓器機能を回復させ、虚血再灌流障害を抑制する可能性があり、ドナー不足解消への一つの解決策となり得る。

#### 引用文献

Iwata Hiroyoshi, Nakajo Tetsuya, Kaneko Hiroki, Okazawa Yuga, Zin Nur Khatijah Mohd, Bochimoto Hiroki, Ohashi Makito, Kawada Yoko, Kamikawa Shota, Kudo Takahiro, Okada Yoko, Ohara Mizuho, Obara Hiromichi, Matsuno Naoto, Combined Use of Subnormothermic Extracorporeal Support and Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion for Liver Graft After Cardiac Death in Pigs, Transplantation Proceedings, 2023, DOI : 10.1016/j.transproceed.2023.03.013

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Iwata Hiroyoshi, Nakajo Tetsuya, Kaneko Hiroki, Okazawa Yuga, Zin Nur Khatijah Mohd, Bochimoto Hiroki, Ohashi Makito, Kawada Yoko, Kamikawa Shota, Kudo Takahiro, Okada Yoko, Ohara Mizuho, Obara Hiromichi, Matsuno Naoto	4. 巻 -
2. 論文標題 Combined Use of Subnormothermic Extracorporeal Support and Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion for Liver Graft After Cardiac Death in Pigs	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.transproceed.2023.03.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小原 弘道, 岩田 浩義, 岡澤 友雅, 金子 太樹, 中條 哲也, 寺口 博也, 暮地本 宙己, モハメド・ジン・ヌル・カティージャ, 大橋 牧人, 石井 大介, 大原 みずほ, 李 小康, 松野 直徒
2. 発表標題 心停止ドナーの移植適用拡大のためのECMOを活用した体内局所灌流による臓器機能回復と機械灌流による臓器機能評価
3. 学会等名 人工臓器
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石井 大介(旭川医科大学), 小原 弘道, 岡澤 友雅, 寺口 博也, 岩田 浩義, 大原 みずほ, 鳥海 飛鳥, 松野 直徒
2. 発表標題 小腸機械灌流のための基礎検討
3. 学会等名 第58回日本移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原 弘道, 山本 明槻, 岡澤 友雅, 寺口 博也, 中條 哲也, 金子 太樹, 暮地本 宙己, ヌル・カティージャ, 大橋 牧人, 石井 大介, 岩田 浩義, 大原 みずほ, 李 小康, 松野 直徒
2. 発表標題 臓器機械灌流における代謝指標による温阻血ブタ肝臓機能評価
3. 学会等名 第58回日本移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原 弘道, 二方 幹弥, 岡澤 友雅, 寺口 博也, 中條 哲也, 金子 太樹, 暮地本 宙己, ヌル・カティージャ, 大橋 牧人, 石井 大介, 岩田 浩義, 大原 みずほ, 李 小康, 松野 直徒
2. 発表標題 臓器機械灌流のための時空間画像情報を援用した虚血障害評価
3. 学会等名 第58回日本移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原 弘道, 岩田 浩義, 岡澤 友雅, 寺口 博也, 中條 哲也, 金子 太樹, 暮地本 宙己, Khatijah Mohd Zin Nur, 大橋 牧人, 石井 大介, 大原 みずほ, 李 小康, 松野 直徒
2. 発表標題 ECMOによる温阻血障害回復臓器のICGを用いた臓器機械灌流による移植前評価
3. 学会等名 第58回日本移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田 浩義, 中條 哲也, 小原 弘道, 岡澤 友雅, 金子 太樹, Khatijah Mohd Zin Nur, 暮地本 宙己, 大橋 牧人, 李 小康, 大原 みずほ, 松野 直徒
2. 発表標題 ブタ心停止ドナー肝に対するECMOの利用と機械灌流保存
3. 学会等名 第58回日本移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松野 直徒, 宮城 重人, 岩本 整, 中村 有紀, 岩田 浩義, 石井 大介, 高橋 裕之, 大原 みずほ, 横尾 英樹, 小原 弘道, 日下 守, 伊藤 泰平, 剣持 敬
2. 発表標題 臓器保存の最前線 我が国から発信する移植臓器灌流保存 腎臨床研究の開始と他臓器への挑戦
3. 学会等名 第58回日本移植学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原 弘道, 二方 幹弥, 山本 明槻, 松野 直徒, 中條 哲也, 金子 太樹, 石井 大介, 岩田 浩義, 大原 みずほ, 暮地本 宙己, 大橋 牧人, 李 小康, 松野 直徒
2. 発表標題 ECMOと機械灌流法による心停止ドナーの移植適用拡大
3. 学会等名 第34回代用臓器・再生医学研究会総会/日本バイオマテリアル学会北海道ブロック第6回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二方 幹弥, 小原 弘道, 山本 明槻, 松野 直徒, 中條 哲也, 金子 太樹, 石井 大介, 岩田 浩義, 大原 みずほ, 暮地本 宙己, Khatijah Mohd Zin Nur, 大橋 牧人, 李 小康
2. 発表標題 ICGを用いた近赤外蛍光計測による臓器内流れの定量評価
3. 学会等名 第34回代用臓器・再生医学研究会総会/日本バイオマテリアル学会北海道ブロック第6回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroyoshi Iwata, Tetsuya Nakajo, Hiromichi Obara, Tomomasa Okazawa, Hiroki Kaneko, Hiroki Bochimoto, Makito Ohashi, Aiko Kawada, Xiao-Kang LI, Shunsuke Iwai, Mizuho Ohara, Naoto Matsuno
2. 発表標題 Beneficial Effects of Combined Use of ECMO and Hypothermic Machine Perfusion for Porcine DCD Liver
3. 学会等名 Transplantation Science Symposium Asian Regional Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡澤友雅, 小原弘道、岩田浩義, 中條哲也, 金子太樹、暮地本宙己、大橋牧人, 大原みずほ, 李小康, 松野直徒
2. 発表標題 局所体内灌流により回復された心停止ドナー臓器の機械灌流による移植前評価
3. 学会等名 第48回臓器保存生物医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原弘道、岡澤友雅、寺口博也、中條哲也、金子太樹、暮地本宙己、Mohd Zin Nur Khatijah、大橋牧人、石井大介、岩田浩義、大原みずほ、李小康、松野直徒
2. 発表標題 肝臓移植拡大のための機械灌流による移植前機能評価
3. 学会等名 第48回臓器保存生物医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原弘道、岡澤友雅、岩田浩義、中條哲也、金子太樹、暮地本宙己、大橋牧人、大原みずほ、李小康、松野直徒
2. 発表標題 ECMOによる障害回復臓器の機械灌流による移植前評価
3. 学会等名 第48回臓器保存生物医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩田浩義、中條哲也、小原弘道、岡澤友雅、金子太樹、大橋牧人、李小康、岩井駿祐、大原みずほ、松野直徒
2. 発表標題 ブタ心停止ドナー肝に対する ECMO の利用と機械灌流保存
3. 学会等名 第48回臓器保存生物医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原弘道、石井大介、岡澤友雅、岩田浩義、大原みずほ、鳥海飛鳥、和田 基 松野直徒
2. 発表標題 小腸の保存と評価のための機械灌流
3. 学会等名 第48回臓器保存生物医学会
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
---------	---------