

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23689063

研究課題名(和文) 体外肺灌流技術を用いた、傷害のあるドナー肺の評価とその治療への挑戦

研究課題名(英文) Challenge in the assessment of the injured donor lungs and its treatment using an ex vivo lung perfusion

研究代表者

陳 豊史 (Fengshi, Chen)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：00452334

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,600,000円、(間接経費) 5,880,000円

研究成果の概要(和文)：肺移植におけるドナー不足を解消する手段として、マージナルドナー肺などの「障害ドナー肺」の利用が必須である。障害ドナー肺の安全な利用のためには、ドナー肺の質を移植前に正確に評価する必要がある。そこで、体外肺灌流(EVLP)を用いてドナー肺の質を移植前に正確に評価し、さらに、EVLP中に治療まで行うという研究を行った。まず、EVLPを用いてドナー肺の機能が正確に評価できることを示した。続いて、EVLP中に薬剤を吸入投与した群では、投与しない群に比べ、有意に肺機能が良好であることが示され、EVLPを用いた障害ドナー肺への治療の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To encounter the donor shortage in lung transplantation, it is necessary to utilize the injured donor lungs, such as marginal donor lungs. It is essential to assess the quality of the injured donor lungs for using such injured lungs safely. Thus, we performed the study in which we assess the function of the donor lungs preoperatively using an ex vivo lung perfusion (EVLP) and even treat the injured lungs during EVLP. Firstly, we demonstrated that we could assess the function of the donor lungs accurately using EVLP. Secondly, the group with a drug inhalation showed a better lung function than the group without a drug inhalation, suggesting the possibility of treatment of the injured donor lungs during EVLP.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・呼吸器外科

キーワード：肺移植 体外肺灌流 傷害肺 蘇生

## 1. 研究開始当初の背景

わが国では、臓器移植法の改正後、脳死ドナーの増加が顕著であるが、それでもなお、欧米の約 10 分の 1 程度のドナー発生率であり、多くの呼吸不全患者が肺移植の恩恵を受けることなく死亡している。一方、わが国で行われた肺移植の 5 年生存率は 70% を超え、欧米の約 50% を凌駕している。つまり、移植医療の質としては、国際標準レベルを凌駕するわが国において、肺移植をうけることができる患者の数を増やすためには、現行のドナーとしての基準をみたくさないような「マージナルドナー肺」や「心臓死ドナー (donation after cardiac death, DCD) 肺」といった、「障害のあるドナー肺」の利用を考慮することが最も現実的である。

申請者は、学振院特別研究員として、平成 18 年に、ベルギーとカナダを中心に、欧米の肺移植臨床と研究の最前線について調査し、controlled DCD donor (心停止の準備が可能)の方が、uncontrolled DCD donor (突然の心停止に対応)よりも臨床利用が容易で、世界の現状としては、controlled DCD donor からの肺移植が主であることを確認した。平成 20 年からは、カナダ国トロント大学にて、controlled DCD donor からの肺移植臨床に直接携わった。また、体外肺循環 (EVLP: ex vivo lung perfusion) を用いてマージナルドナー肺を評価後に移植するという、世界初の臨床試験 (HELP study) にも携わった。こうした経験を通し、申請者は「障害のあるドナー肺」の質を正確に評価することの重要性を再認識したが、このような医療自体が、世界的にも未だ実験段階で、検討を要する事項が山積していることにも気づいた。そこで、このようなドナー肺を移植前に EVLP を用いて正確に評価するのみならず、「治療まで行う」という計画を立案するに至った。

## 2. 研究の目的

臓器移植法の改正によって脳死ドナーの増加が見込まれるが、それでもなお、我が国でのドナー不足は深刻な問題である。肺移植におけるドナー不足を解消する現実策として、マージナルドナー肺や心臓死ドナー肺といった「障害を受けた、または潜在的に障害のある可能性がある」ドナー肺の積極的な利用が重要である。このような、いわば「障害のあるドナー肺」の安全な利用のためには、ドナー肺の質を移植前に客観的に評価する必要がある。そこで、申請者は、体外肺灌流 (EVLP) の技術を用いて、ドナー肺の質を移植前に精密に評価し、さらに、EVLP 中に吸入などを用いて障害肺の治療まで行うという計画を立案した。

## 3. 研究の方法

慢性的なドナー不足を解消するための最も現実的で有効な手段として、「障害肺」に対する EVLP を用いた評価とその治療を念頭に、肺移植における translational research として臨床に還元することを目標に、以下の研究を行う。

- (1) イヌ障害肺(マージナルドナー肺、DCD ドナー肺)モデルの確立(平成 23-24 年)。さらに、モデルの確立とともに、EVLP を使用する群、使用しない群についても、可能であれば、検討を行う。前処置がない sham 群として、脳死ドナー群も、可能であれば作成する。
- (2) EVLP 中の吸入による肺保護薬投与による、イヌ障害肺の治療の検討。これまでの検討で肺保護効果があった薬剤の吸入を行う(平成 24-25 年)。

## 4. 研究成果

平成 23 年度において、当初の予定通り、大動物における 3 種類の障害肺モデル(脳死ドナー、マージナルドナー、DCD ドナー)の確立を行い、モデルの再現性も確認

した。また、大動物 EVLP や肺移植を用いた実験を進め、肺機能の評価についても検討を始めることができた。

平成 24 年度には、DCD ドナーモデルにおける、EVLP 中の薬物治療の可能性および有効性についても、検討を行うべく実験を開始した。KCL を用いた DCD ドナーモデルにおける EVLP の再現性を十分に確認した後、これまで申請者らが、小動物 EVLP や大動物肺移植実験で検討を行ってきた beta-2 agonist を用いた大動物 EVLP 実験を行った。また、平成 23 年度中に、DCD ドナーモデルにおいての実臨床での課題である、心停止までの時間と肺障害についての検討の必要性が生じたため、平成 23 年度末から 25 年度にかけて、副次的な研究として、小動物を用いた実験を行い、controlled DCD donor において、心停止時間までがある一定以内であると、肺障害が増強しないことを確認した。

平成 25 年度には、EVLP 中の肺保護薬投与による、イヌ障害肺の治療の検討を行った。これまでの研究で治療効果のあった beta-2 agonist として、procaterol を中心に検討を行った。具体的には、ビーグル犬（オス、8-12kg）を用いた。これまでに作成した安楽死モデル（KCL 静脈注射）を使用した。心停止後 3 時間後にドナー肺を摘出した。EVLP での評価法は、Steen の方法をもとに、われわれが改良を加えた方法を用いた。まず、ドナー肺の肺動脈、左房カフにカニューラを縫着し、EVLP に接続する。肺動脈圧、左房圧、気道内圧、肺重量をモニターした後、4 時間灌流した。その間、肺機能などを経時的に評価し、灌流終了後、肺組織を摘出し種々の検討を行った。

無治療群と治療群として 2 群設定して実験を行った。治療群では、EVLP 中に procaterol を吸入投与開始した。各群 n=6 ずつ検討した。EVLP 中に procaterol を吸入し

た群では、有意に EVLP 中の肺機能が良好であることが確認された。現在、同実験での sample を用いて、IL-8 と beta-2 adrenoreceptor の働きについて検討を行い、肺保護効果のメカニズムの解明を進めている。また、EVLP 実験の結果に基づき、同じ二群で EVLP 後に肺移植を行う実験を検討中である。

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 11 件)

1. Ohsumi A, Chen F, Sakamoto J, Nakajima D, Kobayashi M, Bando T, Date H. Protective effect of surfactant inhalation against warm ischemic injury in an isolated rat lung ventilation model. PLoS One 2013 Aug 29;8(8):e72574. doi: 10.1371/journal.pone.0072574. eCollection 2013.
2. Motoyama H, Chen F, Ohsumi A, Hijiya K, Okita K, Nakajima D, Sakamoto J, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Protective effect of plasmin in marginal donor lungs in *an ex vivo* lung perfusion model. J Heart Lung Transplant 2013 May; 32(5): 505-10. doi: 10.1016/j.healun.2013.02.007. Epub 2013 Mar 15.
3. Nakajima D, Chen F, Okita K, Motoyama H, Hijiya K, Ohsumi A, Sakamoto J, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Reconditioning lungs donated after cardiac death using short-term hypothermic machine perfusion. Transplantation 2012 Nov 27;94(10):999-1004. doi: 10.1097/TP.0b013e31826f632e
4. Ohsumi A, Chen F, Nakajima D, Sakamoto J, Yamada T, Fujinaga T, Shoji T, Sakai H, Bando T, Date H. Therapeutic

- Effect of Surfactant Inhalation during Warm Ischemia in an Isolated Rat Lung Perfusion Model. *Transpl Int* 2012 Oct;25(10):1096-105. doi: 10.1111/j.1432-2277.2012.01532.x. Epub 2012 Jul 21.
5. Sakamoto J, Chen F, Nakajima D, Yamada T, Ohsumi A, Zhao X, Sakai H, Bando T, Date H. The effect of beta-2 adrenoreceptor agonist inhalation on lungs donated after cardiac death in a canine lung transplantation model. *J Heart Lung Transplant*. 2012 Jul;31(7):773-9. Epub 2012 Apr 24.
  6. Nakajima D, Chen F, Yamada T, Sakamoto J, Ohsumi A, Bando T, Date H. Reconditioning of The Lungs from Non-Heart-Beating Donors with Normothermic Ex Vivo Lung Perfusion. *J Heart Lung Transplant* 2012 Feb;31(2):187-93.
  7. Sakamoto J, Chen F, Yamada T, Nakajima D, Ohsumi A, Kikuchi R, Zhao X, Fujinaga T, Shoji T, Sakai H, Bando T, Date H. Effect of pre-procurement ventilation on lungs donated after cardiac death in a canine lung transplantation model. *Transplantation* 2011 Oct 27; 92(8): 864-70.
  8. Nakajima D, Chen F, Yamada T, Sakamoto J, Osumi A, Fujinaga T, Shoji T, Sakai H, Bando T, Date H. Hypothermic machine perfusion ameliorates ischemia-reperfusion injury in rat lungs from non-heart-beating donors. *Transplantation* 2011 Oct 27; 92(8): 858-63.
  9. Okamoto T, Chen F, Zhang J, Choi H, Yamada T, Morikawa H, Nakayama E, Bando T, Date H. Comparison of Extracellular-Type-Kyoto solution and Perfadex as a preservation solution in a pig ex vivo lung perfusion model: Impact of potassium level. *Transplant Proc* 2011 Jun;43(5):1525-8.
  10. Cypel M, Yeung JC, Liu M, Anraku M, Chen F, Karolak W, Sato M, Laratta J, Azad S, Madonik M, Chow CW, Chaparro C, Hutcheon M, Singer LG, Slutsky AS, Yasufuku K, De Perrot M, Pierre AF, Waddell TK, Keshavjee S. Normothermic ex vivo lung perfusion in clinical lung transplantation. *N Eng J Med* 2011; 364: 1431-40.
- [学会発表](計 24 件)
1. Motoyama H, Chen F, Hijiya K, Takahashi M, Ohata K, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Correlation of physiological data at ex vivo lung perfusion and reperfusion in a rat ischemia-reperfusion model using plasmin. Abstract#692, 34th Annual Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation, San Diego, April 10 - 13, 2014.
  2. Hijiya K, Chen F, K. Takahashi M, Ohata K, Kondo T, Motoyama H, Ohsumi A, Nakajima D, Sakamoto J, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Length of the agonal phase in donors after cardiac death influences donor lung function after reperfusion in a rat model. Abstract#246, 34th Annual Meeting

- of the International Society for Heart and Lung Transplantation, San Diego, April 10 - 13, 2014.
3. Kondo T, Chen F, K. Takahashi M, Ohata K, Motoyoma H, Hijiya K, Ohsumi A, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Protective effect of beta-2 adrenoreceptor agonist inhalation during ex vivo lung perfusion. Abstract#114, 34th Annual Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation, San Diego, April 10 - 13, 2014.
  4. 本山秀樹、陳 豊史、高橋守、大畑恵資、近藤健、土屋恭子、山田徹、毛受暁史、佐藤雅昭、青山晃博、佐藤寿彦、園部誠、大政貢、板東徹、伊達洋至。Ex Vivo Lung Perfusion (EVLP) における灌流液の違いについての検討 OP-030-7 日本外科学会第114回定期学術集会 京都 2014.4.3-5.
  5. 近藤健、陳 豊史、大角明宏、土屋恭子、山田 徹、佐藤雅昭、青山晃博、園部誠、大政貢、板東徹、伊達洋至。Ex vivo lung perfusion施行中における  $\beta$ -2受容体アゴニスト吸入の保護効果。MP10-3 第49回日本移植学会総会 2013.9.7 京都
  6. 陳 豊史、大角明宏、本山秀樹、土屋恭子、近藤健、中島大輔、阪本仁、山田 徹、佐藤雅昭、青山晃博、板東徹、伊達洋至。肺移植における体外肺灌流の歩み。MP12-8 第49回日本移植学会総会 2013.9.7 京都
  7. Kondo T, Chen F, Ohsumi A, Hijiya K, Motoyama H, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. PS1-199. Protective effect of beta-2 adrenoreceptor agonist inhalation during ex vivo lung perfusion. The 13<sup>th</sup> Congress of the Asian Society of Transplantation. Kyoto Sep 2-6. 2013.
  8. H. Motoyama, F. Chen, A. Ohsumi, K. Hijiya, K. Okita, K. Kondo, D. Nakajima, J. Sakamoto, T. Yamada, A. Aoyama, M. Sato, T. Bando, H. Date. Protective Effect of Plasmin in Marginal Donor Lungs in an Ex Vivo Lung Perfusion Model. Abstract#680, 33th Annual Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Montreal, April 24 - 27, 2013.
  9. 陳 豊史、大角明宏、本山秀樹、土屋恭子、尾北賢治、近藤健、中島大輔、阪本仁、山田徹、佐藤雅昭、青山晃博、板東徹、伊達洋至。肺移植におけるトランスレーショナルリサーチ PD-15-3 日本外科学会第113回定期学術集会 福岡 2013.4.11-13.
  10. 大角明宏、陳 豊史、阪本 仁、中島大輔、土屋恭子、本山秀樹、尾北賢治、山田 徹、佐藤雅昭、青山晃博、板東 徹、伊達洋至。肺移植におけるサーファクタント療法。第48回日本肺サーファクタント・界面医学会 シンポジウム 熊本、2012.10.27
  11. Nakajima D, Chen F, Okita K, Motoyama H, Hijiya K, Ohsumi A, Sakamoto J, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Reconditioning of lungs donated after cardiac death with short-term hypothermic machine perfusion. CO10.02 XXIV International Congress of The Transplantation Society Berlin, Germany Jul 16-19, 2012
  12. Motoyama H, Chen F, Ohsumi A, Hijiya K, Okita K, Nakajima D,

- Sakamoto J, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Protective effect of plasmin for the non-heparinized donor lungs after cardiac death. PO10.36 XXIV International Congress of The Transplantation Society Berlin, Germany Jul 16-19, 2012
13. Ohsumi A, Chen F, Nakajima D, Sakamoto J, Kobayashi M, Yamada T, Fujinaga T, Shoji T, Sakai H, Bando T, Date H. Prophylactic Surfactant Inhalation Attenuates Warm Ischemic Injury in Rat Lungs from Donation after Cardiac Death Donors. CO33.08 XXIV International Congress of The Transplantation Society Berlin, Germany Jul 16-19, 2012
14. 陳 豊史 本邦での肺移植を安全に施行し普及させるための工夫 AL-02 第29回日本呼吸器外科学会総会、秋田、2012. 5.18
15. 大角明宏、陳 豊史、阪本仁、中島大輔、土屋恭子、本山秀樹、尾北賢治、菊地柳太郎、堀田健太、山田徹、阪井宏彰、板東徹、伊達洋至. イヌ心停止ドナー肺移植モデルにおけるサーファクタンと吸入の肺保護効果 O07-01 第29回日本呼吸器外科学会総会、秋田、2012.5.17
16. Jin Sakamoto, Fengshi Chen, Daisuke Nakajima, Tetsu Yamada, Akihiro Ohsumi, Takuji Fujinaga, Tsuyoshi Shoji, Hiroaki Sakai, Toru Bando, Hiroshi Date. Beta2-ADRENORECEPTOR AGONIST INHALATION AMELIORATES ISCHEMIA REPERFUSION INJURY FOLLOWING LUNG TRANSPLANTATION FROM NON-HEART-BEATING DONORS IN A CANINE MODEL. PB 5-2. The 12th Congress of the Asian Society of Transplantation. 2011 September 26-28. Seoul.
17. Akihiro Ohsumi, Fengshi Chen, Daisuke Nakajima, Jin Sakamoto, Tetsu Yamada, Takuji Fujinaga, Tsuyoshi Shoji, Hiroaki Sakai, Toru Bando, Hiroshi Date. Prophylactic surfactant inhalation ameliorates ischemia-reperfusion injury in rat lungs from donation after cardiac death donors. OB 5-3. The 12th Congress of the Asian Society of Transplantation. 2011 September 26-28. Seoul.
18. 陳 豊史 本邦における肺移植の現況と今後の展望 シンポジウム3 移植医療の新しい局面をむかえて—各臓器の変遷と今後の展望— S3-4 第36回日本外科系連合学会、東京、2011.
19. 中島大輔、陳 豊史、山田 徹、阪本 仁、大角明宏、藤永卓司、庄司剛、阪井宏彰、板東徹、伊達洋至. 常温肺体外灌流—normothermic ex-vivo lung perfusion(EVLP)—による心停止ドナー肺の回復. O06-04 第28回日本呼吸器外科学会総会、大分、2011.
- 〔図書〕(計1件)  
陳 豊史、伊達洋至。肺移植。呼吸。東京。レスピレーション・リサーチ・ファンデーション, Vol 31, No. 9, 864-867, 2012.
- 〔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
6. 研究組織  
(1)研究代表者  
陳 豊史(京都大学・医学(系)研究科)  
研究者番号: 23689063