臨床応用を目指した48時間、96時間肺保存

近藤 丘, 半田 政志, 藤村 重文, 一ノ瀬高志, 白石 裕治
松村 輔二, 佐々木 寛, 仲田 祐

要 旨

肺移植に際して臨床的に応用可能な保存時間の確立を目指し、48時間および96時間の犬を用いた単純浸漬肺保存実験を行なった。保存液として、これまでわれわれが報告してきたものに改良を加え、さらに pH の影響を検討するために H_2PO_4^- と HPO_4^{2-} の混合比を変えた 2% 低分子デキストランを含むリン酸緩衝液である $\text{E}_{\text{P}1} \sim \text{E}_{\text{P}3}$ 液を用い、96時間保存では心肺保存を考慮して K_2HPO_4 を加えて K 濃度を上げた $\text{E}_{\text{P}4}$ 液を試験的に用いた。この結果、48時間保存では 37°C で生理的 pH に近い $\text{E}_{\text{P}3}$ 液で 100% の保存成功であった。また 96時間保存ではさらに K 濃度を上げた $\text{E}_{\text{P}4}$ 液で保存成功例を得たが、48時間保存成功例に比して胸部 X 線写真所見、組織所見のいずれもやゝ不良であり、保存法に改良を加える必要のある事が判明した。本実験の結果から $\text{E}_{\text{P}3}$ 液を用いた場合、48時間までは安全に肺を保存する事が可能であり、本法は臨床応用可能な肺保存法であると考えられた。

索引用語：肺保存、肺移植、96時間肺保存、リン酸緩衝細胞外液組成保存液。

lung preservation, lung transplantation, 96-Hour lung preservation, Phosphate buffered preservation solution.

肺はその構造上容易に肺水腫となり、かつ再生が期待できないために様々な臓器の中でも保存が極めて困難である。このことから、われわれは肺の安全な保存法の確立はすなわち多くの臓器の保存法の確立につながるものと考えて肺保存の実験を行ってきた。中でも、保存液の組成は保存成績を左右する重要な問題であるが、今回われわれは保存液に改良を加えてイヌを用いた肺の単純浸漬 48 および 96 時間の体外保存を行ない、臨床応用に充分可能な成績を得たので報告する。

実験方法

48時間保存は 3 群とし、各群 4 頭ずつ計 12 頭とした。96時間保存は 2 群とし、各群 4 頭の計 8 頭とした。保存液はこれまで報告してきたも

のの中で最も良い成績を得たものを基本として、pH がその成績に与える影響を探るために H_2PO_4^- と HPO_4^{2-} の濃度比を変化させた $\text{E}_{\text{P}1} \sim \text{E}_{\text{P}3}$ の 3 種類を作成して 48 時間保存実験に用いた。さらに 96 時間保存では $\text{E}_{\text{P}3}$ 液に加え、K 濃度をやや高くした $\text{E}_{\text{P}4}$ 液を用いた。尚、 $\text{E}_{\text{P}1} \sim \text{E}_{\text{P}4}$ 液は全て 2% 低分子デキストラン溶液としてある (表 1)。Donor は Pentobarbital sodium (20~25 mg/kg) を用いて麻酔し、左第 5 肋間を開胸して上下大静脈を結紮切断し、大動脈は大動脈弓部で切断した。気管は肺を虚脱

表 1 実験に用いた保存液の組成を示す。

	Electrolytes (mEq/L)			LMD* (%)	OP* (mOsm)	pH (37°C)
	Na	K	Cl			
$\text{E}_{\text{P}1}$	117	4.1	95	2	304	6.377
$\text{E}_{\text{P}2}$	136	3.8	96	2	318	6.672
$\text{E}_{\text{P}3}$	140	3.9	97	2	339	7.225
$\text{E}_{\text{P}4}$	142	26.2	97	2	364	7.463

* Low molecular weight dextran

** Osmotic pressure

東北大学抗酸菌病研究所外科
〒980 仙台市星陵町 4 番 1 号
原稿受付 1987年 9 月 24 日
原稿採択 1987年 10 月 16 日

させないようにして遮断した後切断し、心肺を en bloc にして摘出した。摘出した心肺は冷却した保存液に浸して、まず右室より肺動脈主幹部にポリエチレンチューブを挿入し結紮して固定した。この際、空気が混入しないように細心の注意を払った。次いで大動脈弓切断端より左室まで同じくポリエチレンチューブを挿入した後、気管内にも同様のチューブを挿入して3本のチューブをわれわれの考案した保存容器に連結して摘出心肺を固定した。肺を 10 cmH₂O の陽圧で inflate したまま肺動脈に挿入したチューブより Heparin 1,000単位と Methylprednisolone 500 mg を加えた保存液 500 ml を点滴セットを用いて落差 80 cm (灌流圧 12.2 ± 3.7 cmH₂O) で流して肺内の血液を wash out した。この後、気管および肺動脈に挿入したチューブを閉鎖して 3~6°C の冷室にて目的の時間保存した。保存終了後は Donor と同様の方法にて Recipient を麻酔し、左第5肋間を開胸して左肺を摘出した後同所性に保存心肺より切離した Donor の左肺を移植した。移植後は

Azathioprine 100 mg と Methylprednisolone 100 mg および抗生剤を連日7日間投与し、以後は各々 50 mg に減量して投与し拒絶反応と感染の防止に努めた。術後は経時的に胸部X線写真を撮影し、移植肺に含気性を有するものを保存成功例とした。またこのような成功例には移植11日後に Pentobarbital sodium による麻酔下で右開胸をし、room air 機械呼吸下に右肺動脈結紮を行ない残存機能評価の指標とした。また実験終了後は全例犠牲死せしめて組織学的な検索を行なった。

実験結果

図1は E_{P3} 液を用いて48時間保存した例の移植翌日と6日後の胸部X線写真を示す。移植した左肺の含気性はきわめて良好であった。これに対して、96時間保存例では全て移植翌日の胸部X線写真では保存移植肺の含気性は不良であったが、この様なものの中にその後含気性を回復してくるものを認め、これも保存成功例とした(図2)。図3は実験成績を示す。48時間

図1 48時間保存例の移植翌日と6日後の胸部X線写真を示す。左側保存移植肺は移植翌日より良好な含気性を有している。

図2 96時間保存例の移植3日後と13日後の胸部X線写真を示す。左側保存肺は移植3日後では含気性不良であるが以後徐々に回復している。

図3 実験結果を示す。Ep₃液を用いた48時間保存では全例移植翌日より胸部X線写真上保存移植肺の含気性が良好である事が確認された。

保存においては Ep₁～Ep₃ いずれを用いたものでも成功例を得ることができたが、中でも Ep₃ 液を用いた群では全例が成功例であった。一方96時間保存では48時間保存で良好な成績を得た Ep₃ 液を用いても成績は不良で成功例は4例中1例のみであったが、K濃度を上げた Ep₄ 液

を用いた群で4例中3例が成功例という比較的良好な結果を得る事ができた。5群20例中13例が含気性を得たが、このうち6例を肺炎、気管支縫合不全、消化管出血などの合併症で失った。残る48時間群5例、96時間群2例の計7例について、移植10～18日後に右肺動脈結紮を施行した。この結果96時間群の1例が肺動脈吻合部血栓のため死亡したが、他の6例は30分間の検査に耐えた。この実験では Pao₂ の低下や P_{PA} の上昇を見るものもあったが、全例保存移植肺の機能温存が確認された(表2)。組織学的には、48時間、96時間いずれの場合も肺胞構造は良く保たれてはいたものの、特に96時間保存例においては肺胞壁の肥厚、器質化の所見が強く、また部位によっては肺胞構造の破壊も見られ、機能検査所見を裏付ける所見と思われた(図4、5)。

考 案

臓器保存法としては、現在は灌流保存法と浸漬保存法の2つのものがある。用いられている

表2 移植後10～18日に施行した右肺動脈結紮時の各計測値を示す。

DOG No.	P _{PA} (mmHg)		P _{aO₂} (Torr)		P _{aCO₂} (Torr)		CO*(L/min)	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
8506★	12	19	65.8	53.3	32.2	37.4	2.28	2.39
8510★	26	37	83.9	56.8	21.8	35.5	0.88	0.97
8511★	14	27	121.5	69.8	23.0	35.2		
8515★	11	25	86.6	75.1	29.6	31.9	1.09	0.97
8516★	15	23	95.0	92.6	20.4	27.5	0.75	0.73
8601★★	13	24	96.7	54.6	27.0	52.4	1.85	1.82

* Cardiac output

★ 48-hour preservation

★★ 96-hour preservation

図4 48時間保存例の剖検時に採取した保存移植肺の組織所見を示す。肺胞壁の肥厚は認めず肺胞構造も良く保たれている。(×100)

溶液は主として灌流保存では細胞外液類似組成のもの、浸漬保存では細胞内液類似組成のものである。われわれはかねてより、保存温度が異なる場合があるとは言えこの2つの方法における保存溶液の違いに疑問を持ち、低温下においても臓器や組織の保存に最適の溶液の組成は1つであろうと考えて各種保存液を作成し、肺の保存実験を行ってきた。当初はそれまでの腎、肺保存の報告¹⁻⁵⁾をもとにして高K溶液を用いて6時間の低温持続灌流肺保存を行ない、成功

例を得る事ができた⁶⁾。その後、自作の細胞外液組成の保存液との比較実験では細胞外液組成液でも低温下で充分肺を保存しうることが確認された⁷⁾。この際、保存液に膠質が必要である事が判明した。この事は12時間の持続灌流肺保存実験においても確認されたのみならず、高K溶液においても保存時間が長くなると膠質の存在が不可欠のものとなる事が示唆されている⁸⁾。以上の実験から合成の細胞外液組成の保存液でも充分肺の保存が可能である事が確認された

図5 96時間保存例の剖検時に採取した保存移植肺の組織所見を示す。肺胞壁の肥厚は著明であり、肺胞構造もやや破壊されて気腫化した所見を認める。(×100)

め、さらに24時間の単純浸漬肺保存実験において両者が比較された。この結果ではむしろ高K溶液よりも細胞外液組成液を用いた群の成績が良好であった^{9,10)}。また、同時に緩衝剤の影響を見るためにリン酸緩衝液としたものと重炭酸緩衝液にしたものを比較しているが、閉鎖回路ではない本実験においては当然のごとく、pHの上昇をきたしたため重炭酸緩衝液を用いたものの成績は不良であった⁹⁾。今回の実験では今までの経験から保存液は低分子デキストランを添加したリン酸緩衝細胞外液とし、保存液のpHの影響を検討すると同時にさらに長時間の肺保存が可能であるかを検討した。この結果48時間保存において生理的pHに最も近いE_{P3}液で100%の保存成功であった。96時間保存では心肺保存を考慮してK濃度を上げたE_{P4}液で良い成績を得たが、今後の保存液を検討するうえで参考になるものと考えている。

結 論

48時間、96時間の単純浸漬肺保存実験の結果以下の結論を得た。

1. イヌを用いた実験から96時間までの肺保存が可能である事が示唆された。
2. E_{P3}液(低分子デキストラン加細胞外液組成リン酸緩衝液)を用いて臨床的にも48時間の体外肺保存が安全に行ない得ると考えられた。

文 献

- 1) Levy, M. N.: Oxygen Consumption and Blood Flow in the Hypothermic, Perfused Kidney. *Am. J. Physiol.*, **197**:1111-1114, 1959.
- 2) Leaf, A.: The Mechanism of Fluid Exchange of Tissues in vitro. *Biochem. J.* **62**:241-248, 1956.
- 3) Collins, G. M., Bravo-Shugerman, M. and Terasaki, P. I.: Kidney Preservation for Transplantation. *Lancet*, **6**:1219-1222, 1969.
- 4) Sacks, S. A., Petrisch, P. H. and Kaufman, J. J.: Canine Kidney Preservation Using a New perfusates. *Lancet*, **12**:1024-1028, 1973.
- 5) Veith, F. J., Crane, R., Torres, M., Colon, I., Hangstrom, J. W. C., Pinsker, K. and Koerner, S. K.: Effective Preservation and Transplantation of Lung Transplants., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **72**:97-105, 1976.
- 6) 近藤 丘: 肺の体外低温持続灌流保存に関する研究。特に灌流液組成からみた移植成績について。抗酸菌病研究雑誌, **31**(1):75-88, 1979.
- 7) 近藤 丘, 藤村重文, 半田政志, 山内 篤, 岡部

- 健, 仲田 祐: 肺保存に関する実験的研究—特に, 灌流液組成からみた成績について—移植, **19**(1): 82-85, 1980.
- 8) 半田政志: 肺保存に関する研究. 特に低温持続灌流における灌流液組成について. 抗酸菌病研究雑誌, **34**(1~3): 72~85, 1982.
- 9) 近藤 丘, 藤村重文, 山内 篤, 岡部 健, 半田 政志, 塩ノ崎文博, 齊藤 亮, 一ノ瀬高志, 仲田 祐: 肺保存に関する実験的研究—24時間単純浸漬保存の成績について—, 移植, **19**(5): 295-299, 1984.
- 10) 藤村重文, 近藤 丘, 仲田 祐: 肺移植の問題点と研究動向. 日本臨床, **43**(1): 83-86, 1985.

48- and 96-hour canine lung preservation aiming its clinical application

*T. Kondo, M. Handa, S. Fujimura, T. Ichinose, Y. Shiraishi,
Y. Matsumura, H. Sasaki and T. Nakata*

Department of surgery, Research Institute for Chest Diseases and Cancer, Tohoku University, Japan

48- and 96-hour lung preservation were conducted using simple cooling method in dogs. The effect of buffer action of solutions to the lung preservation was examined.

Phosphate buffered solutions with 2% of low molecular weight dextran ($E_{p1} \sim E_{p3}$) were prepared with the change of pH by altering the ratio of $H_2PO_4^-$ and HPO_4^{2-} . In E_{p4} , K_2HPO_4 was added for considering its availability to the heart-lung preservation. As to the electrolyte composition, all solutions were prepared as the extracellular fluid. For preservation, heart-lung bloc of the donor was used. After completion of the preservation, left lung was removed from the heart-lung bloc and transplanted to the recipient orthotopically. Recipient was immunosuppressed using 100 mg/day of azathioprine and 100 mg/day of methylprednisolone for 7 days after transplantation, thereafter each drug was decreased to 50 mg/day in dosage. Serial chest X-ray films were taken after transplantation. Contralateral pulmonary artery ligation was conducted on 11th day postoperatively in the successful cases.

4 out of 4 (100%) were successful transplants after 48-hour preservation using E_{p3} solution with the pH resembling to the physiological pH at 37°C. In 96-hour preservation, 3 out of 4 were successful cases, however, they did not give satisfactory results on chest X-ray films, contralateral pulmonary artery ligation and histologic findings comparing to successful cases in 48-hour preservation group. Further improvement in preservation solution is considered to be needed for 96-hour lung preservation.

From this experiment, we concluded that our method of lung preservation using E_{p3} solution may be reliable for 48-hour lung preservation in human lung transplantation.