

臓器灌流装置開発の現状

東京医科歯科大学心臓血管外科

長岡 英気, 藤田 知之

Eiki NAGAOKA, Tomoyuki FUJITA



1. はじめに

本邦における心臓移植は、2010年の改正臓器移植法(臓器の移植に関する法律)施行後、年々増加傾向で、2023年には初めて100例を超えた¹⁾。しかし、LVAD(left ventricular assist device)を装着した待機患者はさらに増えており、深刻な移植臓器不足が続いている。臓器不足を解消する1つの方法として、海外では心停止後ドナー(donation after circulatory death, DCD)を心臓移植へ用いる試みが進んでいる。一般的に行われているDCD移植は、意図的に人工呼吸器などを停止させ、心筋虚血から心停止に導いた後に、心臓を摘出し心臓移植に用いるcontrolled DCDといわれる方法である。このため、DCDにおける問題の1つは、脳死移植(donation after brain death, DBD)と異なりいったん常温における虚血、心停止を経た心臓が、果たして移植において十分な機能を持っているかについての判断が難しいことである。

このため、DCDではドナーより摘出した心臓はいったん灌流装置に接続し、移植に適した臓器であるかを確かめる必要があり、その際に用いる体外臓器灌流装置の重要性が注目されてきた。DCD心移植の増加に伴って、灌流装置が大きく注目されてきている。

2. EVHPの変遷

臓器灌流保存の研究の歴史は古く、1965年にLevyらがnormothermicの持続灌流により11時間の保存が可能であったと報告している²⁾。その後も1968年にProctorらが、

72時間の低温灌流を行ったイヌの心臓が拍動可能であったことを示している。しかし、長時間の低温灌流はmicroemboliを生じさせ、心臓の機能障害につながると結論づけている³⁾。この実験では、の血液を含まない低温(5℃)灌流液(modified Kreb's solution)が用いられ、持続灌流を行った後に20℃と35℃の灌流液でフラッシュ操作を行い、別のイヌの大腿動静脈に接続し心機能を評価したものである。この時期には、他にも動物実験を中心として報告が多くなされている^{4)~6)}が、いずれも低温の灌流液を用い、体外で拍動させずに心筋の酸素需要を極力抑えた状態で、併せて代謝物の除去を行うことを目的とした灌流が行われていた。このため、特に体外に取り出した虚血状態から血液を灌流する際に発生する虚血再灌流障害の低減について多く議論されている。嫌気性代謝の結果、アデノシン三リン酸(ATP)が枯渇しATP依存性のポンプが機能しなくなることにより、細胞内にカルシウムなどが過剰に蓄積して細胞膜の過酸化が生じ、血管内皮障害が生じる。再灌流により産生されるケミカルメディエータが、さらに細胞障害を引き起こしていく。一連の虚血再灌流障害を低減するrh-SOD(superoxide dismutase)⁷⁾、t-PA(tissue plasminogen activator)⁸⁾、TxA2(thromboxane A2) synthase inhibitor⁹⁾などの投与が試みられ、それぞれ効果を上げている。他にも、reperfusionにおいてみられる細胞内外のedema(浮腫)を予防するため、浸透圧を高く保つ必要があることも示された¹⁰⁾。血液を灌流液に入れることは、酸素運搬能の点から有利に働く。しかし、血液を使用した際の決定的な問題は、好中球などの免疫細胞が心臓に灌流されることである。これは心停止後の再灌流障害をさらに助長すると考えられる¹¹⁾。他にも灌流圧や灌流液の温度など多くの検討事項があり、これらの灌流液に関する研究は心筋保護液の研究とともにこの時代に多く行われており¹²⁾、現在の心筋

■ 著者連絡先

東京医科歯科大学心臓血管外科
(〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45)
E-mail. nagaoka.cvsg@tmd.ac.jp



図1 Organ Care System (OCS™) heart装置 (文献14より引用)

保護、虚血再灌流障害対策へとつながっている。

臨床における使用では、1981年にWicombらが4例の心臓移植においてポータブルの体外臓器灌流装置に装着し、7～16時間の低温灌流を行った後に心臓移植を行った報告が最初である。このうち1例において急性の拒絶反応があったが、その他の3例は良好な心機能を呈したと報告され、体外灌流の可能性が示された¹³⁾。

その後、Hassaneinらは、低温灌流による障害の欠点を解消するには、常温で血液を添加した灌流液の方が心臓にとって生理的で良いのではないかという仮説から、Langendorff式の灌流法をブタの心臓を用いて行い、12時間保存した後に、同じく12時間冷保存した心臓との比較を行った。冷保存群は血流再開後、時間とともに心機能が低下したが、灌流群は心機能の低下がわずかで、再灌流障害が低減されていることを示した。この結果などから、TransMedics社はOrgan Care System (OCS™) heartを開発し、実用化につなげている(図1)。OCS™ Heart EXPAND Trialと proceed II trialを経て、2021年にOCS™ heartは米国食品医薬品局(FDA)からextended criteria donorの心機能評価と保存を目的とした使用の承認を得た。その後、2022年にはDCD心臓移植における使用の承認も得て、現在(2024年5月)に至っている。Proceed II trialは多施設の前向き、オープンラベル、無作為化を行ったOCS™の非劣性試験であるが、30日の患者・移植心生存がOCS群94%、SCS(冷保存)群97%で、非劣性が示された。さらに詳しくみると、移植までの全時間はOCS群324分でSCS群195分と有意にOCS群で長いにもか

かわらず、非劣性が示されている(図2)。また、OCS™を装着後にlactateの上昇などから移植に不適切であるとされたケースもあり、OCS™が移植前の評価機器として有効であったことも付け加えられている。

2023年には、DCD心臓移植をEVHP(*ex vivo* heart perfusion)を用いた群と、通常のDBD心臓移植EVHPを用いない群との比較試験が発表された。本試験では無作為化行付けされた後に、最終的にDCDによる移植80例とDBDによる移植86例がas-treated解析で比較されたが、本試験においては移植後6ヶ月における生存率は有意差がなく、むしろDCDによる心臓を用いた群の方が良い傾向すらあった。この試験においてDCDからの移植率は89%で、10%程度の心臓はEVHPにより移植に適さないと判断されて使用されていない。適切なグラフト評価がグラフト不全を予防しているといえる¹⁴⁾。

3. EVHPの目的

EVHPの主な用途は次の2つである。

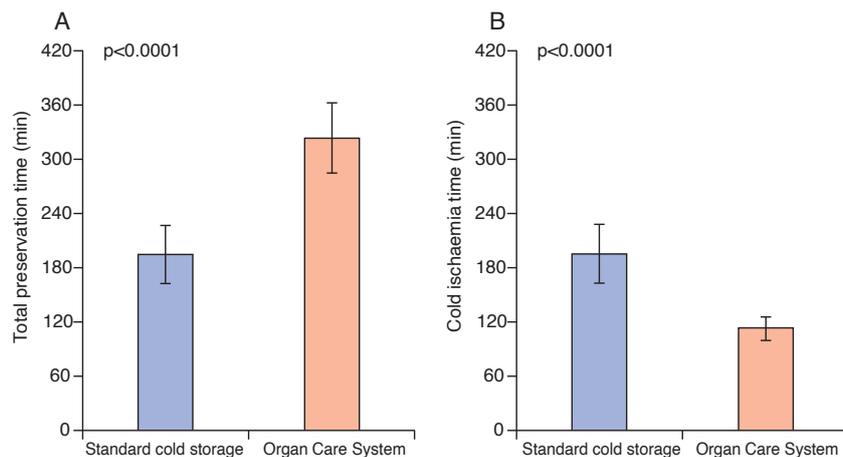
1) 臓器保存時間の延長

従来心臓移植では心臓を停止させ、冷保存しているが、この場合、長くても心臓の保存時間は4～6時間に限られている。一方で、灌流装置に心臓をつなぎ、心臓の代謝を制御できる状態に維持すれば、より長期の保存が可能となる。広大な国土を持つ北米、オーストラリア、中央アジアなどでは、搬送距離により移植が制限されることがあったが、OCS™ heartの導入により積極的なドナー心臓の利用が進んできている。深刻な移植心不足の本邦などでは、他国から臓器搬送を行う可能性も出てくる。

2) 心機能評価装置

2つ目のEVHPの用途は、ドナー心臓が移植に耐えうるものであるかどうかを判断する、心機能評価装置としての使い方である。ドナー心臓の状態は必ずしも良いとは限らない。EF低下例などのマージナルドナーの心臓が本当に機能するかについては、移植してみないとわからない。特に心停止後のドナーの心臓を移植心として用いるDCD心臓移植においては、人工呼吸器停止後から心臓を取り出すまでの温虚血時間(warm ischemic time, WIT)が必ず発生するため、WIT前の心機能が良かったとしても、摘出後の心臓が十分に機能するかについてはわからない。そのため、植込み前に機能評価を行うことが望ましい。

これまでの報告では、人工呼吸器停止後のfunctional WIT(平均血圧50 mmHg以下もしくはSpO₂ 70%未満になった時点から大動脈遮断し心筋保護液を投与されるまでの時間)が30分間を超えると移植後の心機能が低下すると



Mean total preservation (out-of-body) time (A) and total cold ischaemia time (B) in the Organ Care System group versus the standard cold storage group. Error bars show SDs.

図2 A：全保存時間，B：冷虚血時間（文献14より引用）
全保存時間はOCSで長くなるが冷虚血時間は短い

されており¹⁵⁾、その他様々な理由で心機能が障害される可能性があるが、移植前に心機能障害の有無を確認するには心臓を動かしてみるしかない。ただし、Langendorff式回路で十分に心機能が評価できるかについては検討の必要がある。

4. EVHPの様々な試み

前述の歴史的背景より、現在は常温の血液を添加したEVHPが中心となっているが、前項で述べたの2つの目的を達成するために様々な工夫がなされている。

1) 血液浄化療法の併用

特に「1) 臓器保存時間の延長」は、通常の自己血を用いたLangendorff式回路では限界があることが知られている。Spencerらは、同じ血液を灌流し続ける常温の灌流では代謝物の除去や栄養の枯渇などから維持が困難になる限界があると仮定し、その限界を延伸するために回路に血液透析を組み込む工夫を行い、24時間の灌流が可能であったことを報告している¹⁶⁾。

2) 低温灌流法

常温灌流が主流となってきているが、低温灌流の研究も続けられており、Steenらはブタを用い、8℃の低温で15分間の灌流とその後60分間の灌流なしを繰り返し、24時間という長時間保存の後に他のブタに移植が行えたことを示している¹⁷⁾。

3) 灌流液組成の検討

Whiteらは、灌流液を全血ベースのものにした場合とヘモグロビンベースのacellularのものにした場合とを比較

し、全血の方が収縮機能と拡張機能のいずれにおいても良好であったことを示している¹⁸⁾。この他にも、心臓の活動における主たる栄養源であるfree fatty acidを補充するなど、様々な試みがなされている。

4) working mode (WM)

これまでに述べられたOCSTM heartは、Langendorff式の心臓灌流装置であり、冠灌流のみが行われているため左室への前負荷はかからない。正確な心機能の評価には前負荷が必要なため、この装置では正確な心機能評価は不可能であった。前述のWhiteらは、Langendorff回路によるEVHPでは限界があると考え、左房に接続した回路から血液を適量注入し左室に前負荷をかけるworking mode (WM)を開発した¹⁹⁾。この実験ではブタの心臓を摘出し、それを独自に開発した左房送血回路を有する装置で12時間灌流してWMとnonworking mode (NWM)を比較しているが、12時間後(T11)における心拍出量はWMで有意に保たれていた(図3)。これは、心臓には負荷をかけない方が良いというこれまでの常識を覆す報告である。

5) LVADモード

我々はこの考えをさらに発展させ、心臓にかかる前負荷を適切にコントロールし心臓を生理的に拍動させ、なおかつ心臓の仕事量を低下させることのできるLVAD modeを考案した²⁰⁾。LVAD modeでは、心拍出量などの心機能指標が他のresting mode (Langendorff), working mode群と比べて有意に保たれていることが示された。

6) normothermic regional perfusion (NRP)

心停止後の心臓移植では、評価のために機械灌流

Cardiac Index Preservation

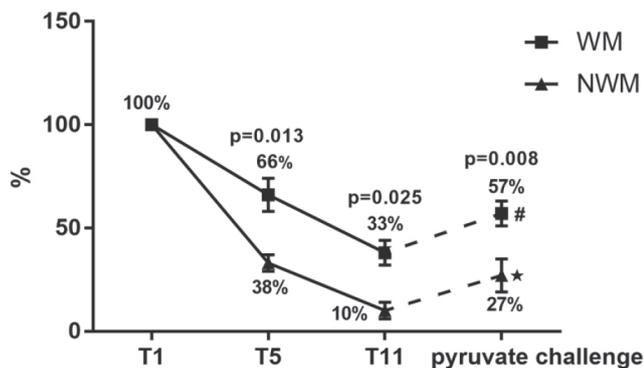


図3 Working mode (WM) と nonworking mode (NWM) の比較 (文献19より引用)

12時間後 (T11) における心拍出量はWMで有意に保たれていた

(machine perfusion, MP) が不可欠であるが, OCS™ heart のような心臓を完全に摘出したうえでの機械灌流 (direct procurement perfusion, DPP) だけでなく, 近年はECMO (extracorporeal membrane oxygenation) や人工心肺の延長で *in situ* で行う normothermic regional perfusion (NRP) が注目されている。心停止後に脳血管を遮断したうえで ECMO もしくは人工心肺で蘇生を行い, 移植臓器を取り出すという方法であるが, 利点は特殊な装置が必要なく, 既存のECMOやCPBで実施可能なことと, 冷虚血時間がなく, 速やかに灌流が開始され, 心臓の機能評価も経食道心エコーやスワングアンツカテーテルを用いて行うことができ, より生理的な評価となることである。欠点は, 全身の虚血再灌流障害の影響を受けることであるが, 何よりも, 不可逆的な心肺停止という死の定義を覆す状況に陥るため, より慎重な倫理的配慮が必要となることなどである。Messerらは, DPP (direct procurement and perfusion) を行った57例とTA-NRP (thoracoabdominal NRP) を用いた19例を比較し, 1年生存率がそれぞれ86%と100%であったと報告し, recipientの偏りなどを排除しても人工呼吸器時間 (DPP 1.4日, TA-NRP 0.5日, $P < 0.01$) や術後の透析率 (DPP 55%, TA-NRP 12%, $P < 0.01$), そして入院期間 (DPP 24日, TA-NRP 18日, $P = 0.03$) とTA-NRPの成績が良好であったことを報告している。

5. おわりに

EVHPには臓器保存と臓器評価の2つの目的があるが, 臓器評価装置として, DCDの拡大とともに広まってきている。一方で, 現在市販されているシステムでは心機能評価が不十分であることや, 保存時間の限界が11~12時間

程度に制限されていることなどが問題である。この他にもまだ多くの課題が残されている。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) 日本臓器移植ネットワーク：脳死臓器移植の分析データ。 <https://www.jotnw.or.jp/data/brain-death-data.php> Accessed 1 May 2024
- 2) Levy JF, Bernard HR, Monafó WF Jr: Isolation and storage of artificially oxygenated mammalian hearts. *JAMA* 191: 1006-8, 1965
- 3) Proctor E, Parker R. Preservation of isolated heart for 72 hours. *Br Med J* 4: 296-8, 1968
- 4) Kioka Y, Tago M, Bando K, et al: Twenty-four-hour isolated heart preservation by perfusion method with oxygenated solution containing perfluorochemicals and albumin. *J Heart Transplant* 5: 437-43, 1986
- 5) Ohtaki A, Ogiwara H, Sakata K, et al: Long-term heart preservation by the combined method of simple immersion and coronary perfusion. *J Heart Lung Transplant* 15: 269-74, 1996
- 6) Calhoun JH, Bunegin L, Gelineau JF, et al: Twelve-hour canine heart preservation with a simple, portable hypothermic organ perfusion device. *Ann Thorac Surg* 62: 91-3, 1996
- 7) Land W, Schneeberger H, Schleichner S, et al: The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 57: 211-7, 1994
- 8) Nicolini FA, Mehta JL, Nichols WW, et al: Leukocyte elastase inhibition and t-PA-induced coronary artery thrombolysis in dogs: beneficial effects on myocardial histology. *Am Heart J* 122: 1245-51, 1991
- 9) Kuzu MA, Köksoy C, Alaçayır I, et al: Thromboxane synthase inhibitor, UK 38485, prevents renal injury in the rabbit isolated perfused kidney exposed to cold ischemia. *Transplantation* 59: 1096-9, 1995
- 10) Belzer FO, Southard JH: Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 45: 673-6, 1988
- 11) Segel LD, Follette DM, Baker JM, et al: Recovery of sheep hearts after perfusion preservation or static storage with crystalloid media. *J Heart Lung Transplant* 17: 211-21, 1998
- 12) Grinyó JM: Reperfusion injury. *Transplant Proc* 29: 59-62, 1997
- 13) Wicomb WN, Cooper DK, Novitzky D, et al: Cardiac transplantation following storage of the donor heart by a portable hypothermic perfusion system. *Ann Thorac Surg* 37: 243-8, 1984
- 14) Schroder JN, Patel CB, DeVore AD, et al: Transplantation Outcomes with Donor Hearts after Circulatory Death. *N Engl J Med* 388: 2121-31, 2023
- 15) Joshi Y, Scheuer S, Chew H, et al: Heart Transplantation From DCD Donors in Australia: Lessons Learned From the First 74 Cases. *Transplantation* 107: 361-71, 2023
- 16) Spencer BL, Wilhelm SK, Urrea KA, et al: Twenty-Four Hour Normothermic Ex Vivo Heart Perfusion With

- Hemofiltration In an Adult Porcine Model. *Transplant Proc* **55**: 224-16, 2023
- 17) Steen S, Paskevicius A, Liao Q, et al: Safe orthotopic transplantation of hearts harvested 24hours after brain death and preserved for 24hours. *Scand Cardiovasc J* **50**: 193-200, 2016
- 18) White CW, Hasanally D, Mundt P, et al: A whole blood-based perfusate provides superior preservation of myocardial function during ex vivo heart perfusion. *J Heart Lung Transplant* **34**: 113-21, 2015
- 19) Hatami S, White CW, Shan S, et al: Myocardial Functional Decline During Prolonged Ex Situ Heart Perfusion. *Ann Thorac Surg* **108**: 499-507, 2019
- 20) Sakota D, Kosaka R, Nagaoka E, et al: Left ventricular assist device mode: Co-pulse left ventricular unloading in a working mode of ex vivo heart perfusion. *J Heart Lung Transplant* **42**: 707-15, 2023