

## 体外肺灌流における新たな肺の機能評価技術の開発

\*<sup>1</sup>産業技術総合研究所健康医工学研究部門, \*<sup>2</sup>東北大学加齢医学研究所呼吸器外科学分野,  
\*<sup>3</sup>東京農工大学大学院農学研究動物生命科学部門, \*<sup>4</sup>順天堂大学医療科学部臨床工学科  
\*<sup>5</sup>東京科学大学心臓血管外科, \*<sup>6</sup>京都大学呼吸器外科,  
\*<sup>7</sup>Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Cleveland Clinic,  
\*<sup>8</sup>Department of Inflammation and Immunology, Lerner Research Institute, Cleveland Clinic,  
\*<sup>9</sup>Transplant Center, Cleveland Clinic

小阪 亮\*<sup>1</sup>, 迫田 大輔\*<sup>1</sup>, 新井川 弘道\*<sup>2</sup>, 岡田 克典\*<sup>2</sup>, 木賀田 哲人\*<sup>3</sup>,  
大内 克洋\*<sup>4</sup>, 長岡 英気\*<sup>5</sup>, 藤田 知之\*<sup>5</sup>, 坂之上一朗\*<sup>6</sup>, 岡本 俊宏\*<sup>7-9</sup>

Ryo KOSAKA, Daisuke SAKOTA, Hiromichi NIKAWA, Yoshinori OKADA, Tetsuhito KIGATA,  
Katsuhiro OHUCHI, Eiki NAGAOKA, Tomoyuki FUJITA, Ichiro SAKANOU, Toshihiro OKAMOTO



### 1. はじめに

肺移植は、重症呼吸器疾患患者に対する最終的な治療法として確立されているが、我が国では2022年の肺移植数は108例と、肺移植待機患者数539人に比べて少なく、慢性的なドナー不足の状態である<sup>1)</sup>。一方、米国では2022年の肺移植は2,633例にもなるが、ドナー肺の冷保存時間の制限やICU管理中の肺機能不全などにより、全ドナー数に対する肺の移植活用率は約18%に過ぎない<sup>2)</sup>。この状況を改善するため、肺移植前に体外でドナー肺の「保存」と「評価」を行う体外肺灌流 (ex vivo lung perfusion, EVLP) が欧米を中心に開発が進み、臨床応用されている<sup>3), 4)</sup>。

EVLPを用いてドナー肺の移植適合性を評価するため、再灌流障害によるドナー肺の肺水腫を評価することは重要であるが、現状はEVLP中の血液ガス計測や呼吸パラメータ、EVLP前後の肺重量変化などを総合的に考慮して移植適合性が評価されている。そのため、早期かつ定量的に肺機能を評価可能なEVLPにおける肺の機能評価技術が求められている。

本稿では、EVLPにおける肺の機能評価技術として、日米医工連携により開発した、サーモグラフィーによる肺表面温度のイメージング技術と、肺の局所的な酸素化能を評価するハイパースペクトルカメラを用いた酸素飽和度イメージング技術、肺水腫の進行具合を評価するための持続

肺重量計測技術の概要を紹介する。

### 2. 開発したEVLPシステムと灌流条件

EVLPにおける肺の機能評価技術を開発するため、図1に示すEVLPシステムを開発した。本システムは、EVLP回路として、肺を設置するオーガンチャンバ、リザーバ、血液ポンプ、人工肺、熱交換器、白血球フィルタを有している (図1a)。図1bに示すように、オーガンチャンバ下面には、Westらによる重力モデルをもとに、再灌流障害が選択的に生じやすい肺の下葉の背側を評価できるように、サーモグラフィーとハイパースペクトルカメラが設置されている<sup>5)</sup>。さらに、肺重量変化を持続計測するため、オーガンチャンバの支えに荷重計が取り付けられている。

灌流試験では、ブタ15頭 (42~49 kg) を使用して脳死下の肺提供を模擬し、臓器摘出後、最小の冷虚血時間でEVLPを実施する5例をControl群とした。また、心停止後の肺提供を模擬するため、心停止後、温虚血1時間あるいは1.5時間設定したのち肺を摘出し、5時間の冷保存 (肺保存液はPerfadexを使用) を実施して、EVLPを実施する心停止ドナー (donation after circulatory death, DCD) 群を各5例実施した。

灌流試験で実施した灌流方式は、灌流液に赤血球を含むLund式EVLPである<sup>6), 7)</sup>。灌流液は、STEEN Solution™ に自己血回収装置セルサーバー (リヴァノヴァ社) で洗浄した赤血球を混ぜたものである。Lund式EVLPでは、まず肺を回路に接続し、流量を1.0 l/minで維持するが、回路からチャンバへのシャントを開放することで急激な肺の灌流を防いでいる。灌流開始10分で流量を0.2 l/minに下げ、

#### ■ 著者連絡先

産業技術総合研究所健康医工学研究部門  
(〒305-8564 茨城県つくば市並木1-2-1)  
E-mail. ryo.kosaka@aist.go.jp

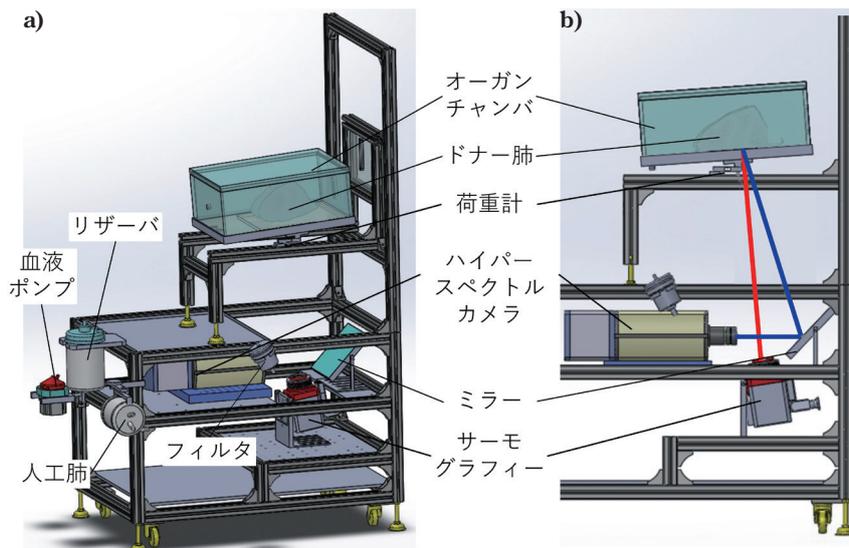


図1 開発したEVLPシステム

シャントを閉鎖することで肺のみに灌流液を送り込む。人工肺内の熱交換器に接続された恒温槽を使用して、肺の温度を37℃まで復温する。サーモグラフィーによる肺の機能評価では、このシャントを閉じる時間を0分とした。そして、流量を徐々に推定心拍出量(70 ml/min/kg)まで増加させ、肺上葉の温度が32℃に到達した時点で、ベンチレーションを開始する。灌流開始1時間と2時間で吸入酸素濃度(fraction of inspiratory oxygen,  $FiO_2$ )を変えて、灌流液の採血による血液ガス計測を実施する。

2時間のEVLPを実施した後、肺の移植適合性はWierupらの基準をもとに、肺の酸素化能、最高気道内圧、肺血管抵抗、シャント率、外観による肺水腫や気管支鏡での浮腫液の有無、EVLP前後の肺の重量変化より、総合的に評価した<sup>8)~10)</sup>。その結果、Control群5例は全て移植適合であり、1.5時間の温虚血時間を与えたDCD群5例は全て移植不適合と判定された。1時間の温虚血時間を与えたDCD群は、4例が移植適合で、1例が移植不適合と判定された。

### 3. サーモグラフィーによる肺機能評価技術<sup>9)</sup>

灌流初期の再灌流障害による循環不良を評価するため、サーモグラフィー(R550Pro, 日本アビオニクス)による肺表面の温度計測を実施した。本サーモグラフィーは、0.025℃の温度分解能を有し、120万画素、30 Hzでのサンプリングが可能である。肺水腫が生じやすい肺の下葉の背側の表面温度をサーモグラフィーで計測可能にするため、肺を設置しているオーガンチャンバの底面に、通常のアクリル樹脂では透過困難な温度計測のための赤外線透過させることができる赤外線透過樹脂シート(GAT, 旭化成ア

ドバンス)を設置した<sup>10)</sup>。

サーモグラフィーで計測された下葉表面の温度分布と平均温度の時間の変化を図2aに示す。図2aより、シャント閉鎖後4分から12分にかけて、移植適合群(suitable case)では、下葉表面の温度が下葉全体で上昇しているのに対し、移植不適合群(non-suitable case)では下葉の末梢で温度が上がりにくくなっている。下葉表面の平均温度の時間変化を比較すると、シャント閉鎖後8分で、移植不適合群の下葉表面の温度は、移植適合群の表面温度よりも有意に低く、カットオフ値は26℃であることがわかった( $25.1 \pm 0.6^\circ\text{C}$  vs.  $27.8 \pm 1.2^\circ\text{C}$ , cut-off = 26℃, AUC (area under the curve) = 1.0,  $P < 0.01$ )。また、シャント閉鎖後8分での左右の下葉の上部・中部・下部の肺表面温度と、肺水腫の指標である2時間のEVLP後の肺組織の水分含有量を示すWet/Dry比の相関を調べた結果を図2b示す。本結果から、下葉の肺表面温度とWet/Dry比は、有意な負の相関を確認することができた( $R = -0.769$ ,  $P < 0.01$ )。つまり、シャント閉鎖後8分の肺表面温度が低いほど組織含水率が高く、肺水腫が生じていることがわかった。

本結果から、サーモグラフィーで計測されたシャント閉鎖後8分の肺表面温度から、早期かつ定量的に肺機能評価が可能であることを示すことができた。

### 4. ハイパースペクトルカメラによる肺機能評価技術<sup>11)</sup>

灌流中の肺の局所的な酸素化能の評価を行うため、ハイパースペクトルカメラ(HSi-300, Gooch & Housego)を用いた肺の酸素飽和度イメージングを実施した。ハイパースペクトルカメラは、内部に分光光度計を備えており、2次

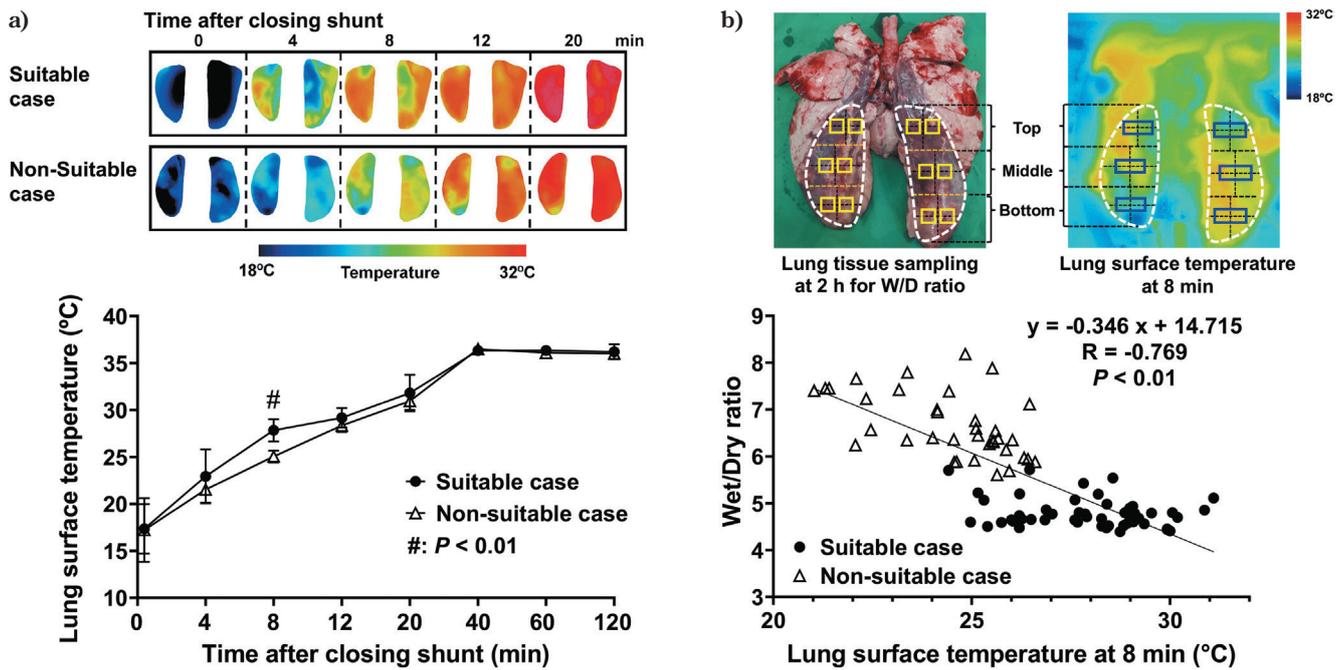


図2 サーモグラフィーを用いた肺機能評価(文献9より改変転載)  
 a) : 肺表面の温度分布と平均温度の比較, b) : シヤント閉鎖後8分の下葉の肺表面温度と, EVLP後の肺組織のWet/Dry比との比較

元の位置情報をもった画像に加えて, 各画素の波長情報を取得できる。そのため, 肺底面の多波長の画像からヘモグロビンの吸光特性を利用した分光分析を行うことで, 下葉底面の酸素飽和度分布を計測した。

ハイパースペクトルカメラで計測されたEVLP中の肺の下葉の酸素飽和度イメージングの結果を図3aに示す。これによると, 灌流中,  $FiO_2$ を変えたとき, 移植適合群では, 下葉の大部分で酸素飽和度は100%であったが, 移植不適合群では移植適合群と比較して酸素飽和度が低下した。 $FiO_2 = 1.0$ における, ハイパースペクトルカメラで推定された酸素飽和度と血ガス装置で計測された肺の酸素化能である $PaO_2/FiO_2$ 比とを比較した結果, 推定された酸素飽和度は $PaO_2/FiO_2$ 比と有意に高い相関が得られた( $R = 0.855, P < 0.01$ )。下葉を3分割して, 下葉の上部・中部・下部の酸素飽和度を移植適合群と移植非適合群とで比較した結果を図3bに示す。本結果から, いずれの部位も移植不適合群で有意に酸素飽和度が低いことがわかった( $P < 0.01$ )。

本結果から, ハイパースペクトルカメラによるEVLP中の下葉の酸素飽和度イメージングから, 肺の機能評価が可能であることを示すことができた。

## 5. 持続肺重量計測による肺機能評価技術<sup>12)</sup>

EVLP中の肺重量変化をリアルタイムに計測すること

で, 再灌流障害により生じる肺水腫の進み具合を評価した。持続肺重量計測を実施するため, オーガンチャンバ下面にロードセル (Load cell Sensor 0~5 kg, uxcell) を設置した。肺重量計測では, オーガンチャンバに人が触れることや流量などの灌流条件が変化することにより, 肺重量とは関係なくロードセルの計測値が変化してしまう。そのため, 誰もオーガンチャンバに触れず, EVLPの灌流条件が一定となる期間をノンタッチピリオドとして設定し, 肺重量変化を計測した。ノンタッチピリオドの終了後は, 次のノンタッチピリオドまで肺重量は同じ速度で変化すると仮定し, 本測定を繰り返すことで, EVLP中の持続肺重量変化を求めた。

本計測法の妥当性を評価するため, 2時間のEVLP終了時まで積算された持続肺重量変化と, EVLP前後に実測されたバックテーブルでの肺重量変化とを比較した。その結果, 2時間の持続肺重量変化とEVLP前後の肺重量変化とでは, 強い正の相関が認められた( $R = 0.979, P < 0.01$ , 図4a)。

EVLP中の肺重量変化を, 移植適合群と移植不適合群とで比較した結果を図4bに示す。これによると, 移植不適合群の肺重量は, 灌流開始40分以降で移植適合群の肺と比べて有意に増加していた(40分,  $51.6 \pm 46.0$  g vs.  $-8.8 \pm 25.7$  g, cut-off = 12 g,  $AUC = 0.907, P < 0.01$ )。次に, 区分線形関数を使用して, 持続肺重量変化の傾向を解析した。

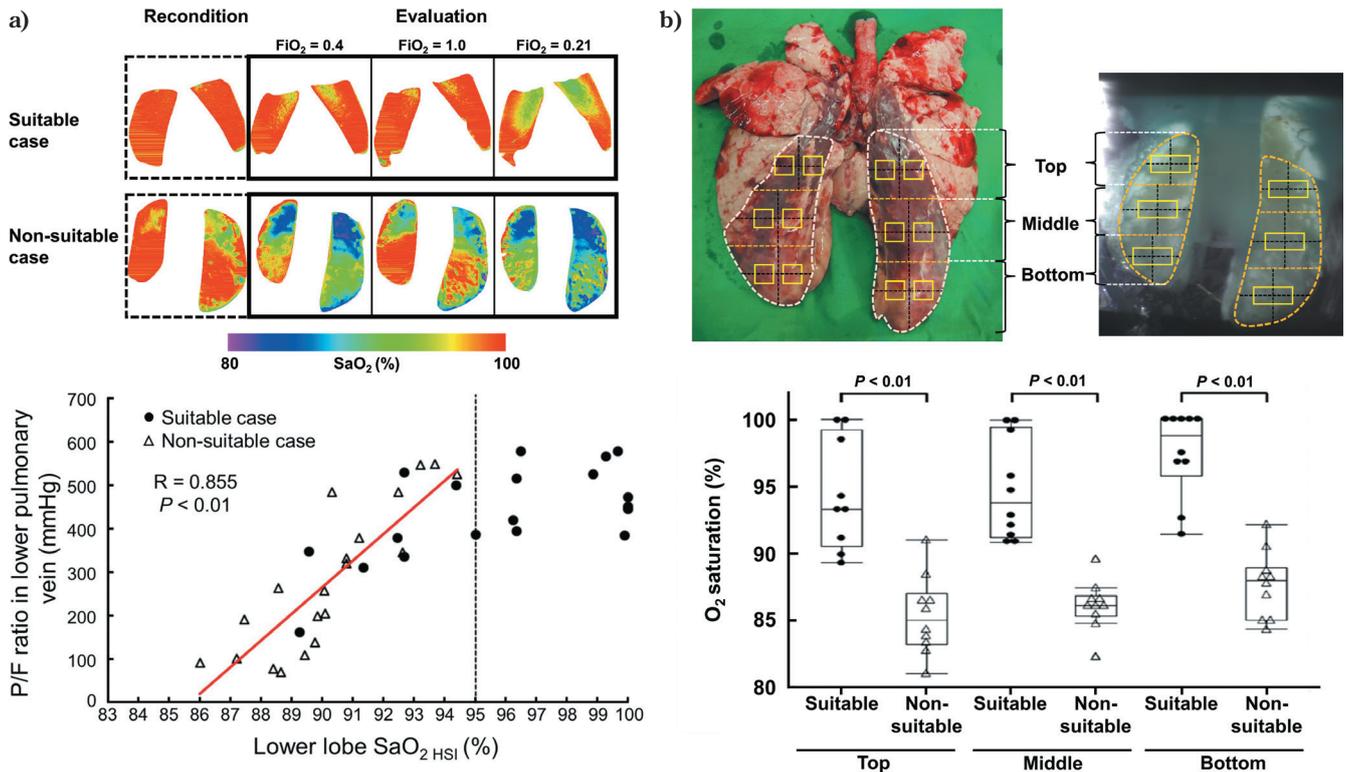


図3 ハイパースペクトルカメラによる肺の局所的な酸素化能の評価 (文献11より改変転載)

a) : 下葉の酸素飽和度イメージングと血ガス計測の比較, b) : 酸素飽和度イメージングによる下葉の上部・中部・下部の酸素飽和度の比較

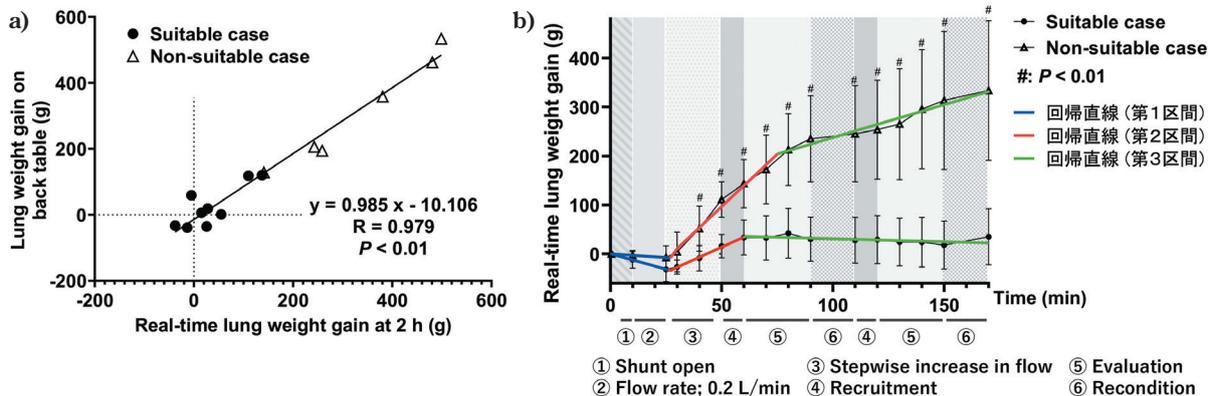


図4 持続肺重量計測による肺機能評価 (文献12より改変転載)

a) : 2時間のEVLP終了時まで積算された持続肺重量変化とEVLP前後に実測された肺重量変化の比較, b) : EVLP中の肺重量変化の比較

まず、流量が低流量の第1区間(青線)では、肺重量は移植適合群および移植不適合群で減少した。これは灌流液の膠質浸透圧が組織の膠質浸透圧に比べて低いため、組織の水が灌流液中に移動することで肺重量が減少した可能性がある。第2区間(赤線)では、両群ともに肺重量は増加した。特に、移植不適合群では顕著に肺重量は増加した。この原因として、流量の増加により、灌流液が肺全体に行き渡ること、特に移植不適合群で灌流液の組織への漏れ、つま

り肺水腫が生じた可能性がある。第3区間(緑線)では、移植適合群で肺重量は一定であった。これは、肺水腫が生じていないことを示している。一方、移植不適合群では肺重量は第2区間に比べて緩やかに増加している。原因として、第2区間の時点で、血管外の肺水分が間質領域に存在していたため、これに続く第3区間では肺水分の漏出が抑制された可能性がある。

本結果から、EVLP中の持続肺重量変化から肺の移植適

合性を早期に評価できること、また、肺重量の時間変化から肺水腫の進行度を評価できることがわかった。

## 6. おわりに

本研究を通じて、サーモグラフィーによる肺表面温度のイメージング技術と、肺の局所的な酸素化能を評価するためのハイパースペクトルカメラを用いた酸素飽和度イメージング技術、持続肺重量計測による肺機能評価技術を開発し、EVLPにおける肺の機能評価に有用であることを示すことができた。本開発手法は非侵襲での計測により肺機能の評価が可能であるため、臨床で実施されているEVLPにも早期に適用可能と考える。今後、開発した肺の機能評価法をもとに、肺の長期保存法についても研究開発を実施する予定である。

## 謝辞および利益相反の開示

本研究は、AMED「官民による若手研究者発掘支援事業」JP20he0422007および、産総研エッジランナーズの支援を受けた。

岡本俊宏：【講演料など】XVIVO Perfusion社  
そのほかの著者には規定されたCOIはない。

## 文 献

- 1) 日本移植学会：臓器移植ファクトブック2023
- 2) Israni AK, Zaun DA, Gauntt K, et al: OPTN/SRTR 2022 Annual Data Report: Deceased Organ Donation. *Am J Transplant* **24**: S457-88, 2024

- 3) Steen S, Liao Q, Wierup PN, et al: Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg* **76**: 244-52; discussion 252, 2003
- 4) Okamoto T, Niikawa H, Ayyat K, et al: Machine perfusion of lungs. *Curr Transpl Rep* **6**: 251-64, 2019
- 5) West JB, Dollery CT: Distribution of blood flow and ventilation-perfusion ratio in the lung, measured with radioactive carbon dioxide. *J Appl Physiol* **15**: 405-10, 1960
- 6) Niikawa H, Okamoto T, Ayyat KS, et al: The protective effect of prone lung position on ischemia-reperfusion injury and lung function in an ex vivo porcine lung model. *J Thorac Cardiovasc Surg* **157**: 425-33, 2019
- 7) Okamoto T, Wheeler D, Liu Q, et al: Correlation between PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> and airway and vascular parameters in the assessment of cellular ex vivo lung perfusion system. *J Heart Lung Transplant* **35**: 1330-6, 2016
- 8) Wierup P, Haraldsson A, Nilsson F, et al: Ex vivo evaluation of nonacceptable donor lungs. *Ann Thorac Surg* **81**: 460-6, 2006
- 9) Kosaka R, Sakota D, Niikawa H, et al: Lung thermography during the initial reperfusion period to assess pulmonary function in cellular ex vivo lung perfusion. *Artif Organs* **46**: 1522-32, 2022
- 10) Hasegawa A: Development of the electric shock prevention transparent cover for infrared thermography diagnosis. *E-journal of Advanced Maintenance* **6**: NT67, 2015
- 11) Sakota D, Kosaka R, Niikawa H, et al: Optical oxygen saturation imaging in cellular ex vivo lung perfusion to assess lobular pulmonary function. *Biomed Opt Express* **13**: 328-43, 2021
- 12) Kosaka R, Sakota D, Sakanoue I, et al: Real-time Lung Weight Measurement During Cellular Ex Vivo Lung Perfusion: An Early Predictor of Transplant Suitability. *Transplantation* **107**: 628-38, 2023