

心臓死肺移植ドナーにおける 死戦期のグラフト障害因子と温虚血開始の定義

三好健太郎, 大藤剛宏, 大谷真二, 田中真, 原田昌明, 柿下大一,
堀志郎, 脇直久, 山根正修, 三好新一郎

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 呼吸器・乳腺内分泌外科学

キーワード：心臓死肺移植, 温虚血時間

Effect of donor pre-mortem hypoxia and hypotension on graft function and start of warm ischemia in donation after cardiac death lung transplantation

Kentaroh Miyoshi, Takahiro Oto, Shinji Otani, Shin Tanaka, Masaaki Harada, Tomokazu Kakishita, Shiro Hori, Naohisa Waki, Masaomi Yamane, Shinichiro Miyoshi

Department of General Thoracic Surgery and Endocrinological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

緒言

肺移植において、心臓死ドナーは近年ドナープール拡大のための一つの選択肢として世界的に注目されている^{1,2)}。心臓死ドナーからの移植では、グラフトが温虚血に暴露されることが最大の難点であり、温虚血時間は移植肺機能の予測のためには重要な因子である。温虚血時間開始の定義としては、ドナーが心停止に至り、グラフトへの還流がなくなった時点とするのが一見合理的である。しかし現在最も安全性が高く世界的に利用されている Maastricht 分類における category III ドナー（人工呼吸中断による延命治療中止の後心停

止にいたったドナー）³⁾からの心臓死肺移植において、ドナーの死戦期が遷延した場合明らかにグラフト機能障害が助長されることから、心停止前からすでにグラフトの温虚血障害が始まっている可能性が認識されている⁴⁾。文献上はドナーの血圧が<50mmHg となった時点を経験開始とするべきとの報告があるが⁵⁾、この妥当性を詳細に検討した研究は現在のところない。このように温虚血時間開始の定義は議論のあるところである。心停止前のグラフト障害因子としてはドナーの死戦期における低血圧によるグラフト低還流のほか、肺の場合低換気も考え得る。これらが移植後肺機能に及ぼす影響について豚肺移植モデルを用いて検証し、ドナー死戦期の温虚血開始について考察を行った。

材料と方法

1. 動物の準備

ランドレース系雄豚40頭（25～30kg）を利用した。

平成23年9月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7265 FAX：086-235-7268

E-mail：kentarohmiyoshi@yahoo.co.jp

プロフィール



昭和52年4月11日生

平成14年3月

平成14年4月

平成16年6月

平成19年4月

平成19年7月

平成20年7月

平成21年4月

平成23年4月

岡山大学医学部卒業

倉敷中央病院外科系 ジュニアレジデント

倉敷中央病院呼吸器外科 シニアレジデント

岡山大学医学部・歯学部附属病院腫瘍・胸部外科入局

岡山赤十字病院呼吸器外科 専修医

岡山大学医学部・歯学部附属病院呼吸器外科 医員

岡山大学医学部腫瘍・胸部外科学肺移植グループ 研究生

岡山大学病院臓器移植医療センター 助教

現在に至る

ケタミン, アトロピンを前投薬として筋肉注射した後, フローセンの持続吸入, パンクロニウムブロマイド間欠静注にて全身麻酔を行った. 気管切開を行い気管内挿管し, 純酸素, 1 回換気量10ml/kg, 呼吸回数15bpm, 呼気終末圧 5 cm H₂O で換気を行った. 以上の設定で準備を行った後, 循環動態, 動脈血液ガスについてベースラインの評価を行った. その後は循環動態を持続的にモニターした.

2. 研究デザイン

20頭をドナーとし, 無作為に以下の4グループ(各n = 5)に分類し, 各群の設定に60分間おいた. これを偽性死戦期と定義した.

1. 対 照 群: ベースライン測定時の呼吸設定で循環動態に操作を加えず.
2. 低血圧群: 心嚢内へ生理食塩水を手動的に注入し, 全身血圧<50mmHgを維持. 呼吸設定は対照群と同様.
3. 低換気群: 吸入酸素濃度を0.21, 呼吸回数を5 bpm に設定.
4. 心停止群: 最初に心停止させた後, 換気, 冷却など行わず60分間おく.

以上の4群の設定で偽性死戦期にドナーをおいた後, 全身へパリン化のうえ電気的心停止させた. 心停止5分後に50%酸素による換気を再開し, 心肺ブロックの摘出操作を開始した. 心停止20分後に1,500mlの4℃に冷却した低カリウムデキストラングルコース液(細胞外液組成肺保存液)を肺動脈より還流し, その後摘出した心肺ブロックを4℃で4時間の冷保存を行った.

レシピエントの左肺摘除を行い, 右主肺動脈にテーピングを行った. 4時間の冷保存をおいたドナー左肺を心肺ブロックから分離し, レシピエントへ左片肺移植を行い, 再還流, 再換気を行った. 純酸素, 1 回換気量10ml/kg, 呼吸回数20bpm, 呼気終末圧 5 cm H₂O で換気を行った. 再還流30分後に右主肺動脈のテーピングを結紮し, 移植肺(左肺)の機能評価を4時間行った.

3. 評価パラメーター

1) 偽性死戦期の評価

15分ごとに全身血圧, 肺動脈圧, 心拍出量の測定および動脈血ガス分析を実施. 同様に血液サンプルの採取し, tumor necrosis factor- α (TNF- α) 濃度測定(ELISA 法). 死戦期の最後に肺の組織サンプルを採

取しホルマリン固定の上パラフィン切片としヘマトキシリンエオジン染色し, 組織学的所見を評価. 以上について4群の偽性死戦期におけるグラフト変化を比較した.

2) 移植後評価

移植肺機能として右肺動脈(移植肺の対側)結紮後, 30分ごとに動脈血ガス分析を4時間実施. また虚血再還流障害の評価として, 再還流4時間後に肺組織サンプルを採取し組織学的所見, 組織中 Interleukin-8 (IL-8) 蛋白発現量(ELISA 法), 湿潤乾燥重量比の評価を行った. 以上について4群の温虚血障害によるグラフト機能障害度を比較した.

結 果

1. 偽性死戦期の評価

偽性死戦期中の各パラメータの推移を図1に示す. 低血圧群では全身血圧を50mmHg未満, 心拍出量を平均1.0未満で, また低換気群では動脈血酸素分圧(PaO₂)を平均40mmHgで, 60分間管理可能であった. 循環設定, 呼吸設定を意図的に行った以上の群以外の群については, 低血圧, 低換気に暴露されることはなかった. その他平均肺動脈圧については低換気群にて他群と比して有意に高い傾向を認めた. 血清 TNF- α 値は, 低換気群のみで有意に高値で推移した. 偽性死戦期最後に採取した肺組織の所見では, 低換気群のみににおいて間質への有意な単球の浸潤所見を認めた.

2. 移植肺機能および虚血再還流障害

再還流右肺動脈結紮後の PaO₂の推移(図2)では, 低換気群のみが他群と比して有意な移植肺機能不全を示した. 低血圧群, 心停止群では対照群と同等の良好な移植肺機能で推移した. 再還流後4時間後採取した肺サンプルの解析では, 組織中 IL-8 値, 湿潤乾燥重量比いずれも低換気群のみが対照群と比して有意に高い結果であった(図3). また組織学的所見においても, 低換気群のみににおいて重度の細胞浸潤, 間質の浮腫, ヒアリン形成を認め, 同群のみでの有意な虚血再還流障害を確認した.

考 察

この研究は Maastricht category III 心臓死ドナーにおいて, 死戦期の低血圧および低換気がグラフトに与える影響について検討したものである. 本研究の結果より, ドナーの低換気に惹起された低酸素状態が肺グ

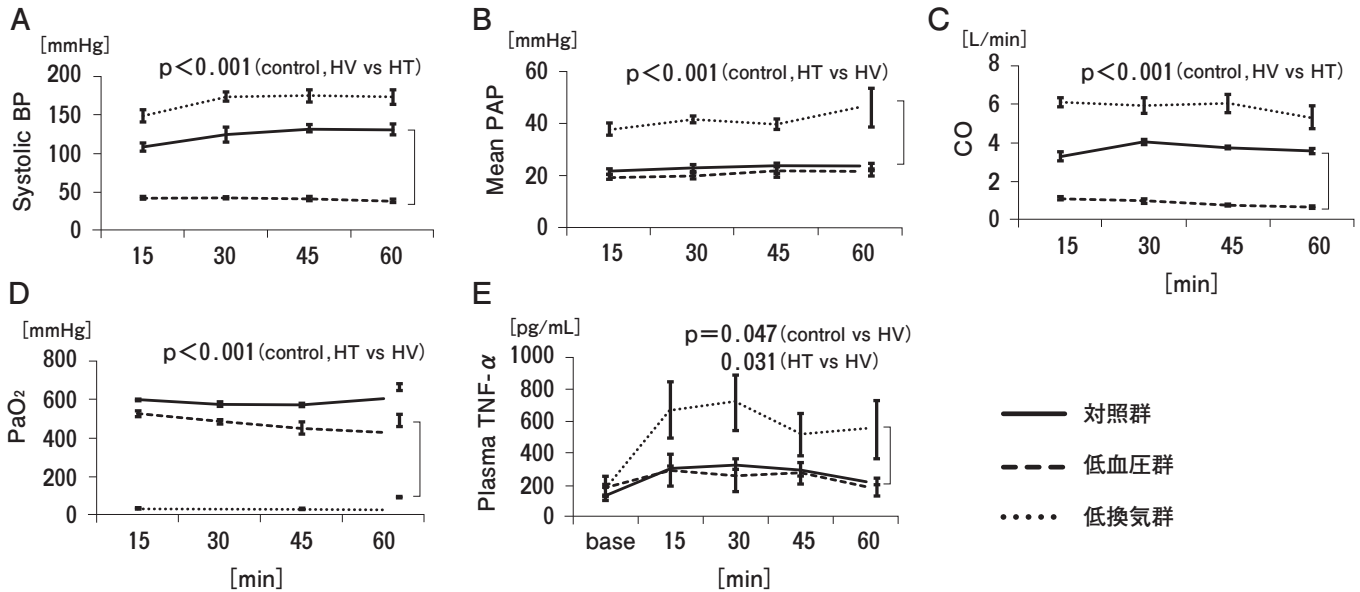


図1 偽性死戦期中のドナーパラメータ推移

低血圧群，低換気群いずれにおいても適切な設定下におくことができた．低換気群では，偽性死戦期中より血清 Tumor necrosis factor- α 値（ELISA 法）の上昇を認めた．（文献 6 より改変して引用）

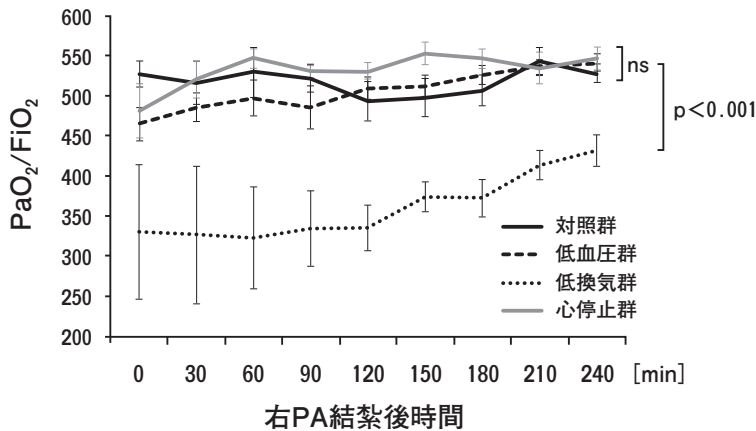


図2 移植後肺機能推移

左移植肺機能を評価するために，右肺動脈を結紮して血液ガス分析を行った．低換気群に有意な移植肺機能低下を認めた．（文献 6 より改変して引用）

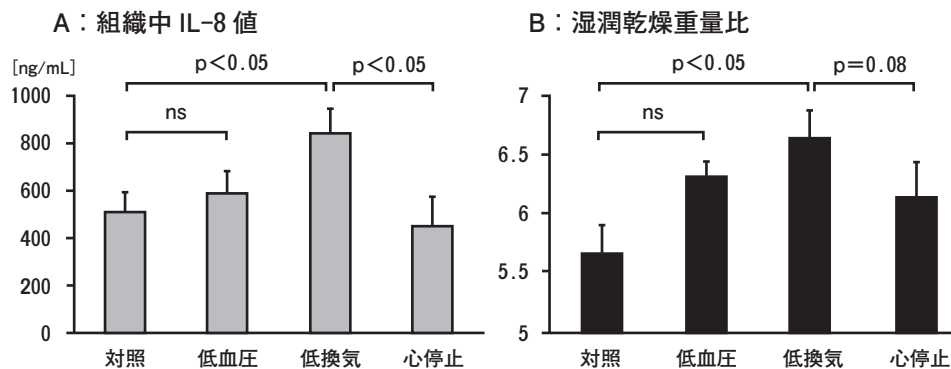


図3 再還流 4 時間後の虚血再還流障害の評価

グラフト組織中の Interleukin-8 発現量（ELISA 法），湿潤乾燥重量比いずれにおいても低換気群で高値であり，ドナー死戦期の低換気暴露が有意に虚血再還流障害を惹起することが示された．（文献 6 より改変して引用）

ラフトの移植後機能に対して明らかに悪影響をおよぼしている一方、低血圧は単独ではグラフトの障害因子とはならないことが示された。これらの結果は、Maastricht category III の心臓死臓器提供の課程において、ドナーが人工呼吸を中断され、低換気状態に至った時点からすでに強い肺グラフトの障害が始まっていることを示唆している⁶⁾。

他の実質臓器の移植では低血圧および血液の還流不全に影響を受けると考えられているのに対し、肺グラフトでは低換気が重要な障害因子であることについては3つの理由が考察される。ひとつは、肺は大気中の酸素に直接接する臓器であるという特殊性である。Egan らは、基礎的実験により心停止後、酸素換気下におくことで4時間肺実質細胞が生存したと報告している⁷⁾。これは肺の代謝が主に気道からの酸素の拡散に依存していることを示唆している。ふたつ目に、肺胞腔内の低酸素環境は好中球や単球などの血管内皮への接着を促進させ炎症を惹起することが知られており、これが移植後の虚血再還流障害を増幅している可能性がある^{8,9)}。実際、本研究において、偽性死戦期中のドナーの血清 TNF- α 値は低換気群で上昇しており、偽性死戦期終了時の肺組織においても同群で著名な細胞浸潤を認めている。最後に、循環下に肺胞腔内の低酸素状態にいたると肺の生理学的特徴として肺動脈の血管収縮をきたす（いわゆる hypoxic pulmonary vasoconstriction）。これが肺動脈圧上昇につながり、末梢側の肺毛細血管の内膜障害につながっている可能性がある。以上の低換気、低酸素に関連した肺の生理学的特徴に、本研究の結果は矛盾しない。

本研究のもう一つの興味深い結果として、心停止前の低換気暴露（低換気群）は、同一時間の心停止下温虚血（心停止群）よりも強いグラフト障害因子であることも示された。これについては、循環下低換気状態の方が、非循環下における状態よりも、肺毛細血管の血流があるためより効率的に肺胞腔内の酸素が拡散、吸収されるため、肺胞腔内の酸素濃度が急速に下がりやすいというメカニズムが考え得る。従来臓器移植におけるグラフト機能障害の原因が一時的な血流遮断による単純な虚血が本体と考えられてきた中で、この結果は肺の酸素代謝の本質を示唆する現象であり重要である。

Maastricht category III 心臓死肺移植における温虚血時間開始の定義については、①人工呼吸中断時、②

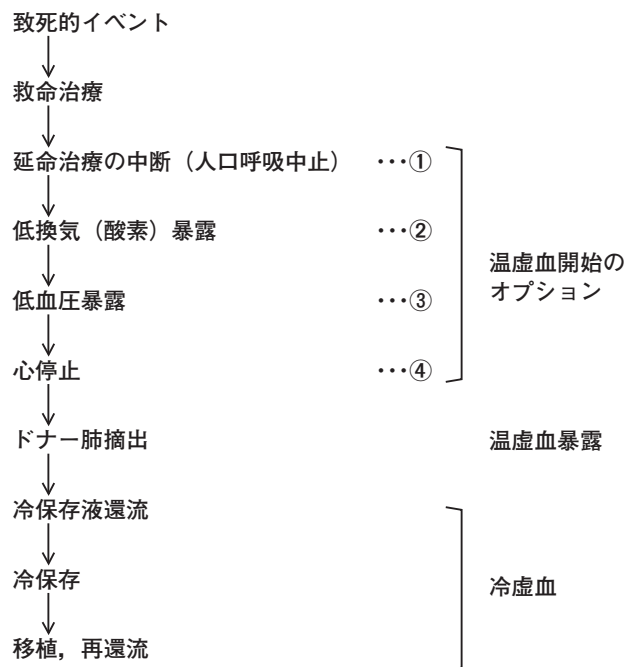


図4 Maastricht 分類における category III 心臓死ドナーからの臓器提供の流れと、温虚血時間開始の定義

低酸素に至った時点、③低血圧に至った時点、④心停止に至った時点の選択肢が挙げられる¹⁰⁾（図4）。本研究の結果から、①あるいは②が妥当ということになる。人工呼吸中断後、通常ドナーは急速に低酸素状態に暴露されることが多く、また実際の臨床心臓死臓器提供の現場において、ドナーの頻回の動脈血ガス分析が手続き上困難であることを考慮すれば、人工呼吸中断時を温虚血障害の開始と考えるのが安全であると考えられる。

結 論

心臓死肺移植ドナーにおいて、死戦期の低換気は重要なグラフト障害因子であり、低血圧は有意な悪影響を与えない。心臓死ドナーが低換気、低酸素下に暴露された時点を経たグラフトの温虚血開始の定義とすることが妥当である。

文 献

- 1) Mason DP, Thuita L, Alster JM, Murthy SC, Budev MM, Mehta AC, Pettersson GB, Blackstone EH: Should lung transplantation be performed using donation after cardiac death? The United States experience. J Thorac Cardiovasc Surg (2008) 136, 1061-1066.
- 2) Snell GI, Levvey BJ, Oto T, McEgan R, Pilcher D,

- Davies A, Marasco S, Rosenfeldt F: Early lung transplantation success utilizing controlled donation after cardiac death donors. *Am J Transplant* (2008) 8, 1282-1289.
- 3) Kootstra G, Daemen JH, Oomen AP: Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc* (1995) 27, 2893-2894.
 - 4) Bernat JL, D' Alessandro AM, Port FK, Bleck TP, Heard SO, Medina J, Rosenbaum SH, Devita MA, Gaston RS, Merion RM, Barr ML, Marks WH, et al.: Report of a National conference on donation after cardiac death. *Am J Transplant* (2006) 6, 281-291.
 - 5) Levvey BJ, Westall GP, Kotsimbos T, Williams TJ, Snell GI: Definitions of warm ischemic time when using controlled donation after cardiac death lung donors. *Transplantation* (2008) 86, 1702-1706.
 - 6) Miyoshi K, Oto T, Otani S, Tanaka S, Harada M, Kakishita T, Hori S, Waki N, Masaomi Y, Miyoshi S: Effect of donor premortem hypoxia and hypotension on graft function and start of warm ischemia in donation after cardiac death lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* (2011) 30, 445-451.
 - 7) Egan TM: Non-heart beating donors in thoracic transplantation. *J Heart Lung Transplant* (2004) 23, 3-10.
 - 8) Belcher JDH, Mahaseth TE, Welch AE, Vilback AE, Sonbol KM, Kalambur VS, Bowlin PR, Bischof JC, Hebbel RP, Vercellotti GM: Critical role of endothelial cell activation in hypoxia-induced vasoocclusion in transgenic sickle mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (2005) 288, H2715-2725.
 - 9) Madjdpour C, Jewell UR, Kneller S, Ziegler U, Schwendener R, Booy C, Kläusli L, Pasch T, Schimmer RC, Beck-Schimmer B: Decreased alveolar oxygen induces lung inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2003) 284, L360-367.
 - 10) Oto T, Levvey BJ, McEgan R, Davies A, Pilcher D, Williams T, Marasco S, Rosenfeldt F, Snell G: A practical approach to clinical lung transplantation from a Maastricht category III donor with cardiac death. *J Heart Lung Transplant* (2007) 26, 196-199.