

第51回 日本臨床腎移植学会 集中教育セミナー

腎臓灌流保存技術を我が国の臨床 現場に導入するために

Prof. Belzer と UW 液そして灌流保存



70 Organ Biology VOL.24 NO.1 2017

●プロジェクト委員会報告

**腎臓灌流保存装置の臨床現場への導入
に関するアンケート調査報告**

**松野直徒・絵野沢伸・尾崎倫孝・坪 尚武・日下 守・深井 原
岩本 整・玉置 透・剣持 敬**

日本臓器保存生物医学会プロジェクト委員会では、2016年10月アンケート調査を行い、腎移植 High Volume施設では需要度が高いことを認識

本日の話題

- この技術は現在も欧米で普及している。
- 摘出腎が使えないかもしれないし使えるかもしれないという状況で、客観的数値を持って判断する技術の話
- レシピエント選びなどで摘出後、たとえば20時間たってしまったというときに移植を断念するかという時の話 です。

ふたつのUW液



臨床には二つの保存方法

- 単純冷却保存方法—簡便、冷保存液を袋に満たし臓器を入れてアイスボックスで運搬
- 持続灌流保存方法—ポンプを装備した機械を用意して回路に臓器を装着させ保存液が灌流する仕組み。複雑さ。

歴史的には研究は灌流保存の研究のほうが古い

単純冷却保存ではどうしても限界がある

各臓器の虚血許容時間 (単純冷却)

臓器	虚血許容時間 (日本で定める)	虚血許容時間 (海外を含めた 実臨床)
心臓	4時間	6～8時間
肺	8時間	8～12時間
肝臓	12時間	18～24時間
脾臓	24時間	24～36時間
小腸	12時間	18～24時間
腎臓	24時間	36～48時間

US kidneyの時代の保存時間

60時間！

表 8 保存時間 (TCIT) が 60 時間以上の症例
(小崎正巳, 1986²¹⁾)

	症例 1	症例 2	症例 3
TCIT	61時間26分	62時間00分	68時間38分
recipient			
年 齢	35 歳	42 歳	36 歳
性 別	男	女	男
術前輸血量	10 単位	10 単位	10 単位
donor			
年 齢	21 歳	41 歳	14 歳
S-Cr 値	1.4 mg/dl	1.5 mg/dl	0.9 mg/dl
BUN 値	17 mg/dl	30 mg/dl	20 mg/dl
腎摘前尿量	350 ml/h	240 ml/h	280 ml/h
WIT	0 分	0 分	0 分
HLA-A, B不適合数	4	3	2
HLA-DR 不適合数	2	2	1
HD 離脱日数	16日	10日	17日
best S-Cr 値	0.6 mg/dl	0.7 mg/dl	1.3 mg/dl

HD：血液透析.

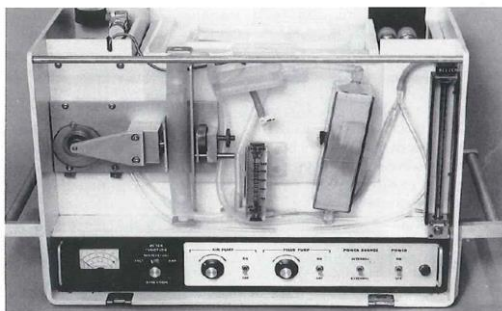
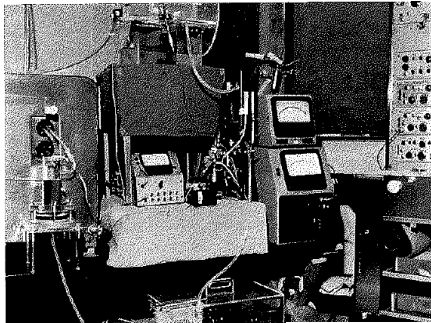
持続灌流保存の特徴

- ① 組織代謝に必要な酸素と栄養素などの供給が可能
- ② 組織代謝により生じた老廃物の除去が可能
- ③ 単純冷却保存により長時間保存が可能
- ④ Viabilityの判定が可能
- ⑤ 必要に応じて薬剤を投与できる
(グラフトコンディショニング 再生?)

Messages from Prof. Belzer 機械灌流保存の夜明け

- 1965年；UCSFでdiseased kidney donor program 開始
。当時脳死が認められず、ドナーはすべて心停止ドナーだった。そのために、どうしても、保存時間は短く、移植手術が緊急となり、保存の重要性を認識した
- 動物実験へ
- 灌流液は最初は血液を用いたが、灌流圧が高くなるので血漿を使うと成績が安定した。
- 1967年；17時間 機械灌流保存した腎移植成功。
- 1971年 37時間 機械灌流保存の腎移植成功

Belzer Machine の数々



UW液を研究開発したBelzer と その仲間たち



UW-gluconate灌流保存液

市販されているUW-gluconate液
Machine Perfusion Solution-Belzer UW®

SOLUTION COMPOSITION

CONSTITUENT	AMOUNT/1000 ML
Adenine (free base)	0.68 g
Calcium Chloride (dihydrate)	0.068 g
Dextrose (+)	1.80 g
Glutathione (reduced)	0.92 g
HEPES (free acid)	2.38 g
Hydroxyethyl Starch	50.0 g
Magnesium Gluconate (anhydrous)	1.13 g
Mannitol	5.4 g
Potassium Phosphate (monobasic)	3.4 g
Ribose, D(-)	0.75 g
Sodium Gluconate	17.45 g
Sodium Hydroxide	0.70 g
Sterile Water for Injection	To 1000 mL Volume



Messages from Prof. Belzer UW液 登場:肝臓、すい臓へ

- それでもMerk Indexを引き, Sigmaのカatalogを開いて資料な物質を探し、選び、試してはまた選ぶ日々が続いた。
- 1984年 Gluconateを用いた腎臓灌流保存液のほうが先にでき3日間保存に成功した。
- 1980年代前半はUW液を用いて、腎臓(72時間)、肝臓(24時間)の保存実験。
- 1987年 臨床すい臓移植、少しずつ保存時間を延ばし30時間)
- 肝移植も成功したが最初は6時間まで。ところが HIV陽性のドナーからヒビへ20時間の灌保存成功。そして、
- 1987年 20時間保存の肝移植成功

UW液はもともと機械還流液の開発の途中で生まれた Kichen sink solution

Table 1. KSP ingredients.	
Experiment #272	Date: 3/12/79
KSP - Kitchen Sink Perfusate	
Compound	Concentration
Lactobionic acid	80 mM
Succinic acid	5 mM
MgOH	10 mM
KH ₂ PO ₄	10 mM
Caprylic acid	3 mM
Adenosine	10 mM
Glutathione	1 mM
Carnithine	2 mM
Butylated hydroxy anisole	0.1 mM
Butylated hydroxy toluene	0.1 mM
Propyl gallate	0.1 mM
CaCl ₂	1.5 mM
Vitamin (MEM)	
Amino acids (essential MEM)	
Amino acids (nonessential MEM)	
Choline CL	30 mM
Raffinose	15 mM
Human serum albumin	3.75g%
Sodium hydroxide	
Potassium hydroxide to pH 7.4 at room temp	
Final Values: Sodium=25 mM;	
Potassium=65 mM; OSM=300 mOsm/l	

国際心停止ドナー会議



7th International Meeting on
Transplantation from DCD
25-26 October 2016

心停止 (DCD) ドナーの分類

Maastricht type

(Transp Proceedings 1995; 25(5): 2893-2894)

G Koostra ほか

Category 1- Dead on Arrival *

Category 2- Unsuccessful Resuscitation *

Category 3- Awaiting Cardiac Arrest

Category 4- Cardiac arrest while brain dead *

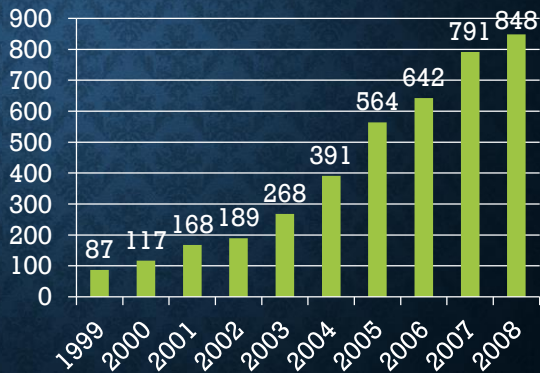
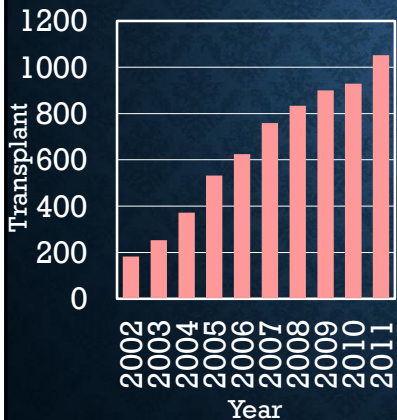
* : uncontrolled DCD

17

深刻な臓器不足に対応するように心停止ドナーが急増している

DCD Donor (kidney, USA)

DCD Donor (Liver, USA)

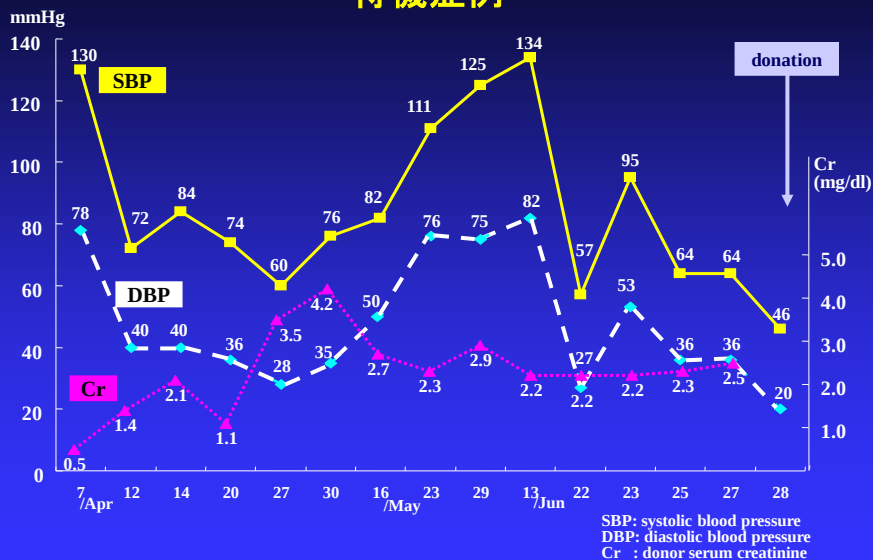


我が国における心停止ドナーの特徴

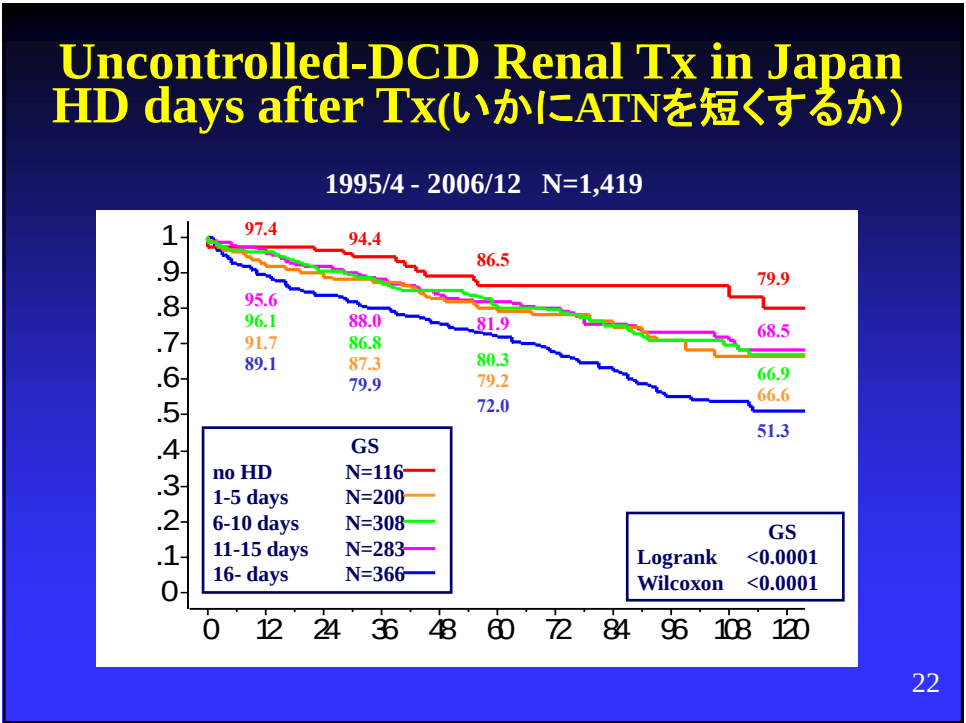
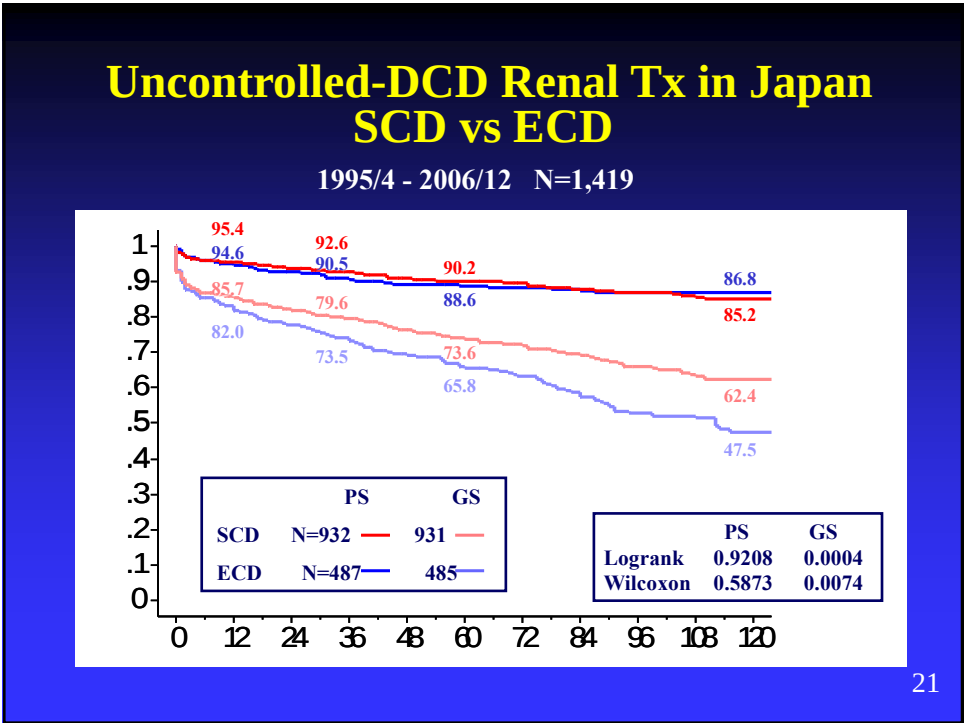
- ① 長い期間の死戦期
- ② 死体内灌流が心停止直後
- ③ 高投与量の昇圧剤
- ④ 心血管系疾患 で高齢者が多い
- ⑤ 一般的に脳死を経ることが多いものの呼吸停止で心停止ドナーになることもある

19

東京医大八王子医療センターで経験した78日間待機症例



20



灌流保存によるdelayed graft functionの軽減

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

JANUARY 1, 2009

VOL. 360 NO. 1

Machine Perfusion or Cold Storage in Deceased-Donor Kidney Transplantation

欧州からの多施設共同研究。死体腎移植。同一ドナーの1腎を単純冷却保存、1腎を低温持続流保存。結論として低温持続流保存による保存のほうが術後無機能は少なく短期間で透析を離脱する。

単純冷却保存 VS 体外型腎臓灌流保存

2012年ごろ多くの臨床研究、試験が行われた
Delayed graft function(ATN)の軽減

Review of Randomized Clinical Trials of Donor Management and Organ Preservation in Deceased Donors: Opportunities and Issues

George S. Dikdan, Cesar Mora-Esteves, and Baburao Koneru¹

TRANSPLANT INTERNATIONAL

LETTER TO THE EDITORS

Machine perfusion in clinical trials: "machine vs. solution effects"



灌流型腎保存は医療費削減に寄与する

Association of Lower Costs of Pulsatile Machine Perfusion in Renal Transplantation from Expanded Criteria Donors

P. M. Buchanan^{a,*}, K. L. Lentine^{a,b},
T. E. Burroughs^a, M. A. Schnitzler^a
and P. R. Salvalaggio^{a,c}

AJT2006:8:2391–2401

Cost-Effectiveness of Hypothermic Machine Preservation Versus Static Cold Storage in Renal Transplantation

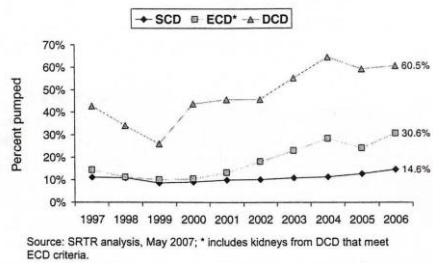
H. Groen^{a,*}, C. Moers^b, J. M. Smits^c,
J. Treckmann^d, D. Monbaliu^e, A. Rahmel^f,
A. Paul^d, J. Pirenne^g, R. J. Ploeg^b and E. Buskens^a

AJT 2012:12:1824–1930

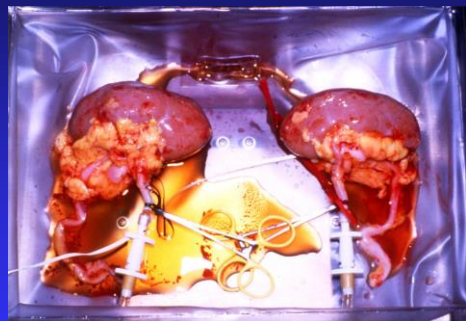
灌流保存技術の海外状況

海外製品の使用頻度（腎臓）；心停止ドナーの60%に灌流保存装置が使用されている

国際学会では、腎臓のほか肝臓、心臓、肺用の製品が並ぶ



東京医大での低温持続灌流保存器



低温持続灌流保存法からみた 腎移植に望ましいグラフトのviability

1. 30～50mmHgの灌流圧で最低0.4ml/min/gの灌流量が得られる
2. 灌流圧が経時的に上昇しない

29

現在の心停止ドナー

- 欧米では、もはや、レスピレーターオフだけが心停止ドナーではない
- 救急搬送された心肺蘇生不能もドナーになる
- 実は日本でも、CPR心停止ドナーは存在した。

救急救命センターでの心肺蘇生不能をドナーに

Contents lists available at ScienceDirect

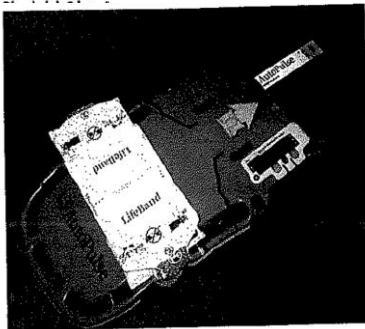
Resuscitation

Case report

Successful kidney transplantation from donation after cardiac death using a load-distributing-band chest compression device during long warm ischemic time[☆]

Junya Morozumi^{a,*}, Etsuo Sakurai^b, Naoto Matsuno^c, Makoto Ito^a, Tomoharu Yokoyama^a, Yuichi Ohtaka^a, Hirokazu Taguchi^a, Takao Arai^a, Kenichiro Kumasaka^a

^a Emergency and Critical Care Medicine, Tokyo Medical University Hachioji Medical Center, Japan
^b Tokyo Prefecture Procurement Coordinator, Tokyo Medical University Hachioji Medical Center, Japan
^c General and Transplantation Surgery, Tokyo Medical University Hachioji Medical Center, Japan

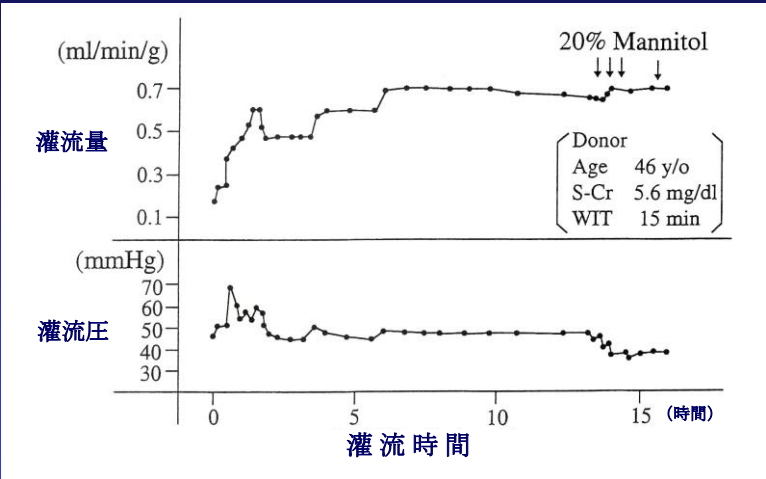


灌流保存は我が国でヒト臨床で行われた

- PNFが少なく、DGFも期間が短い。また術前Viabilityを判定して移植に使用できるかが可能(0.4ml/min/g以上、灌流圧が上昇しない)
- Kozaki M et al: Transplant Proc.23,2575-2578,1991
- Matsuno N et al; Transplantation 57(2) 293-295,1994
- Matsuno N et al: Transplant Proc.26,1903-1905,1994
- Kozaki K et al: Transplant Proc.29,3586-3587,1997
- Matsuno N et al; Clin. Transplant 12:1-4, 1998
- Matsuno N et al: Transplantation 82(11)1425-1428 2006

移植可能と判定した腎臓の保存状況

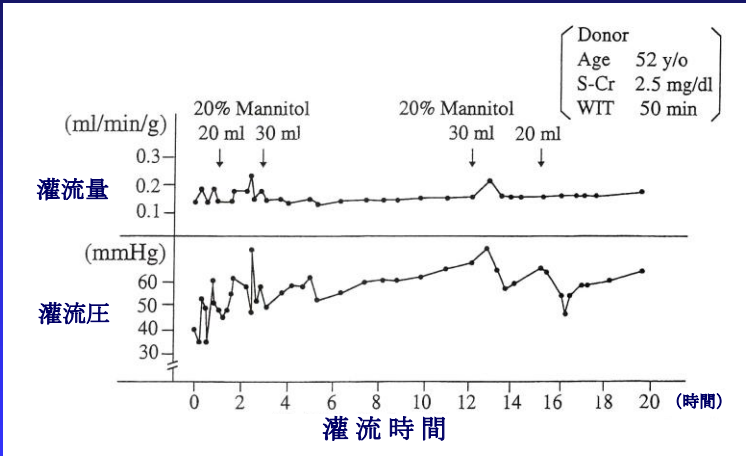
(N Matsuno, et al. Clin Transplantation 1998; 12: 1-4)



33

移植を断念した腎臓の保存状況

(N Matsuno, et al. Clin Transplantation 1998; 12: 1-4)



34

保存中灌流量と予後判定－結果

	灌流量 (ml/min/g)	ATN (日)	最良Cr (mg/dl)	PNF
1群 (n=30)	0.50±0.11	12.2±9.81	1.94±1.25	7 (23.3%)
2群 (n=30)	0.77±0.08	8.61±9.07	1.49±0.70	2 (6.6%)
3群 (n=23)	1.12±0.14	8.65±12.6	1.30±0.57	0 (0%)

(N. Matsuno, et al. Transplantation 82 (11); 1425-1428, 2008)

35

当施設でviability不良と判定し破棄したが他施設で移植した症例

	ドナー 年齢	WIT	灌流状況	転帰
症例1	57	60	0.28ml/min/g 186.1mmHg/ml/min/g	無機能
症例2	53	122	0.62ml/min/g 80.9mmHg/ml/min/g 灌流圧上昇	無機能
症例3	52	59	0.26ml/min/g 236.1mmHg/ml/min/g	無機能

腎保存における低温持続灌流保存法

1) 長期間保存可能(2日あるいは2日以上)

2) DGFが少ない

3) Viabilityの判定が可能

no n- viable	i) Belzer FO	: Flow < 50ml/min
	ii) Matsuno N, Kozaki M	: Flow rate < 0.4 ml/min/g, 灌流圧の変化
	iii) Ferguson RM	: Flow < 70ml/min, RR > 0.4
	iv) Light J	: Flow ≤ 100ml/min, RR > 0.25 + α
	v) Gok MA	: Flow rate < 0.5 ml/min/g, α · GST ≥ 2IU/l/g

4) 保存中のグラフトコンディショニング (manipulation) が可能である(verapamil, regitine, PGE₁, mannitolなど)

Marginal graftであればあるほど有用性が増す保存法

議論が進む灌流保存の温度、酸素条件

Research Article



Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects from biliary injury in a rodent model of DCD liver transplantation

Andrea Schlegel, Rolf Graf, Pierre-Alain Clavien, Philipp Dutkowski*

Department of Surgery, Laboratory of the Swiss HPB and Liver Transplantation Center, University Hospital Zurich, Switzerland

(Rat)

- 低温における積極的酸素化は、肝臓に対して保護的
- 再灌流後の胆管障害の低減

*J Hepatol 2013; 59: 984-991

Transplant International

Transplant International ISSN 0934-6674

ORIGINAL ARTICLE

Role of oxygen during hypothermic machine perfusion preservation of the liver

Bastian Luer,* Martina Koetting,* Patrik Efferz and Thomas Minor

Surgical Research Division, University Clinic of Surgery, Bonn, Germany

(Rat)

- 酸素100%, 20%, 0%で比較
- 100%酸素化において、再灌流後の逸脱酵素低減

*Transplantation Int. 2010; 23: 944-950

American Journal of Transplantation 2013; 13: 1450-1460
Wiley Periodicals Inc.

© Copyright 2013 The American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons
doi: 10.1002/ajtr.12235

Controlled Oxygenated Rewarming of Cold Stored Liver Grafts by Thermally Graduated Machine Perfusion Prior to Reperfusion

T. Minor¹*, P. Efferz¹, M. Fox¹, J. Wohlschlaeger² and B. Luer¹

cals; PNF, primary nonfunction; SNP, subnormothermic machine perfusion; TLR4, toll-like receptor 4

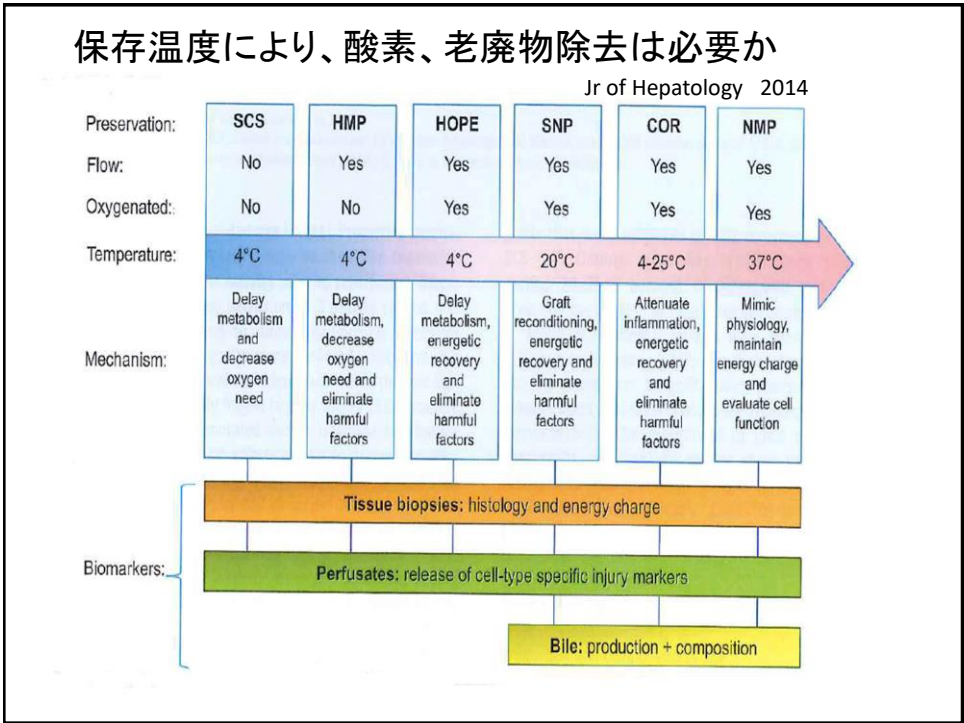
(Pig)

- 単純冷却, 低温, 酸素化復温, 室温灌流で比較
- 酸素化復温が再灌流後の酵素低減, 胆汁生成量増加

*Am J Transplant 2013; 13: 1450-1460

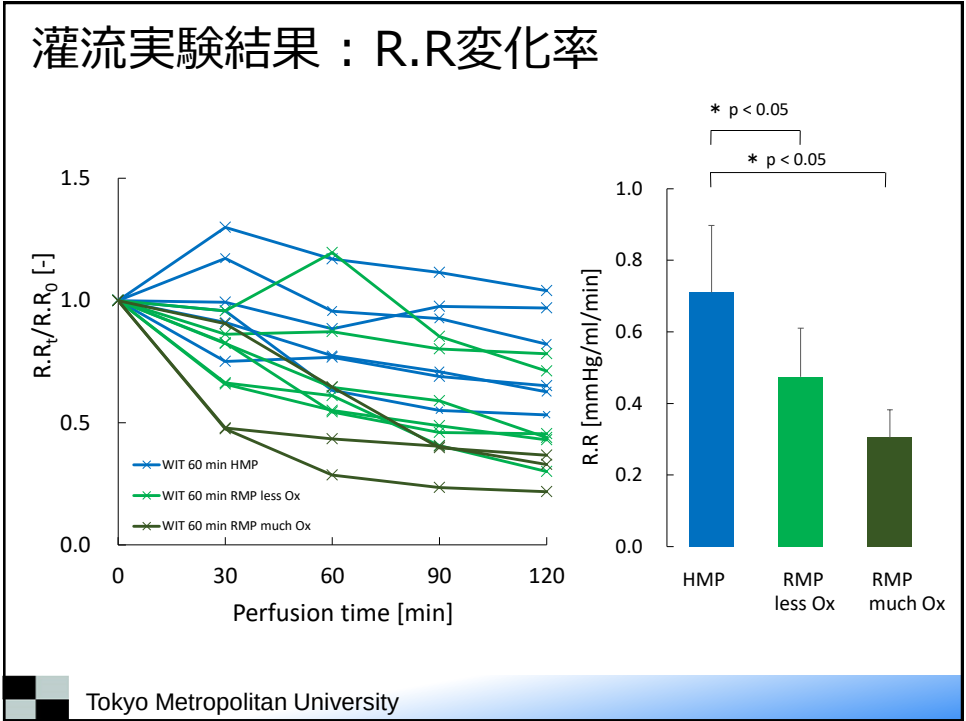


Tokyo Metropolitan University

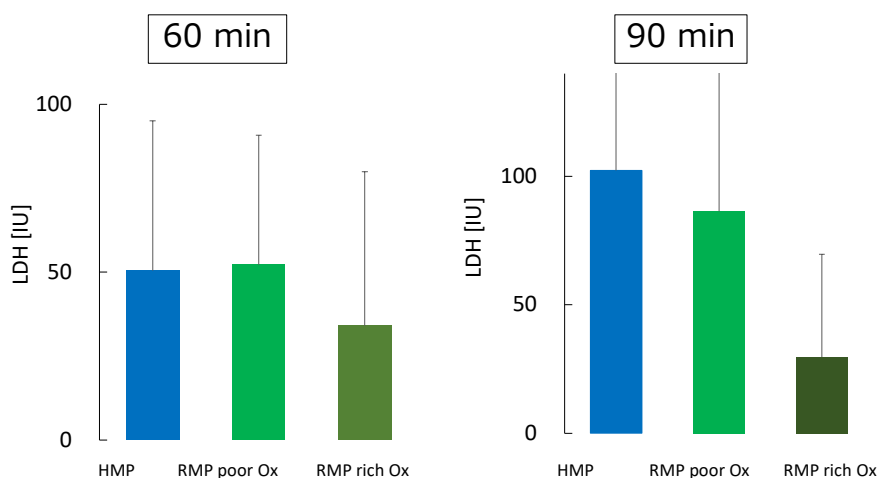


腎灌流保存と酸素、温度 ; 最近の
我々の研究から

- 体重25Kg程度のブタを用い、心停止後60分の腎臓を摘出、2時間の単純冷却保存を行った。さらに2時間の持続灌流保存を行った
- 温度を低温、復温、復温酸素化にして比較検討した



灌流実験結果:逸脱酵素量



Tokyo Metropolitan University

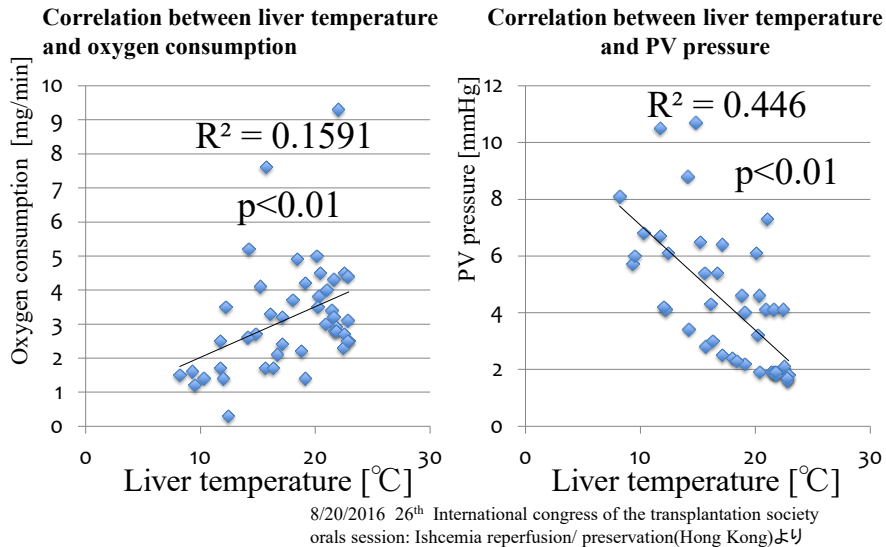
心停止ドナー肝灌流保存の条件検討

提供臓器拡大を目指し

灌流保存技術のさらなる発展のために

1. 灌流保存中の臓器温度の検討
2. 体温血液再灌流モデルによる評価
3. 灌流保存中の液性因子除去の検討

保存中の肝臓温が上昇すると門脈圧は低下するが酸素消費量が増加する

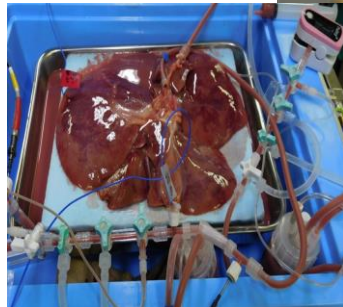


人工赤血球含有肝灌流保存液



Preservation method

- CS group (N=3)
- SNMP group (N=3)
- AOC SNMP group (N=3)
- AOC (300ml) SNMP group (N=1)

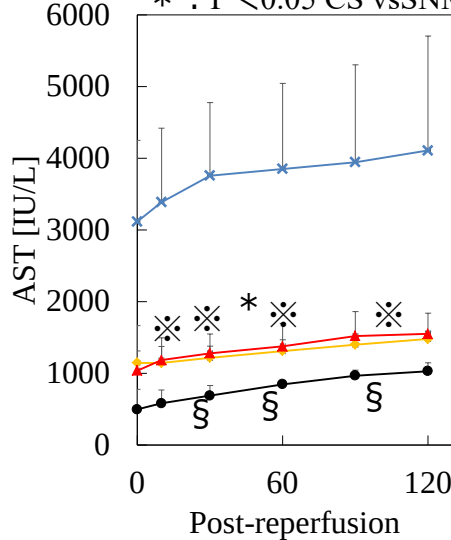


再灌流中のAST, Lactate

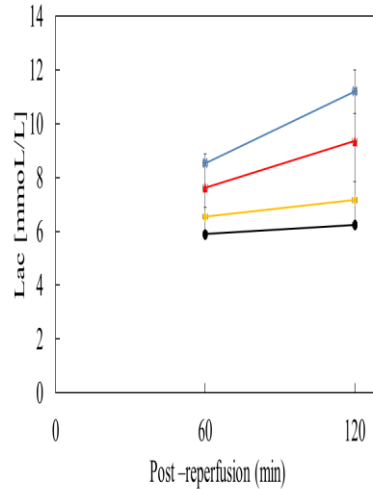
AST

※ : $P < 0.05$ CS vs AOC SNMP

* : $P < 0.05$ CS vs SNMP



Lactate



心停止ドナー肝に対する、短時間 低温持続還流臨床研究

First Comparison of Hypothermic Oxygenated PERfusion Versus Static Cold Storage of Human Donation After Cardiac Death Liver Transplants

スイス、オランダ、イギリス

25例心停止ドナー WIT33

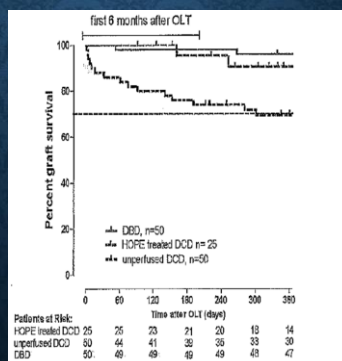
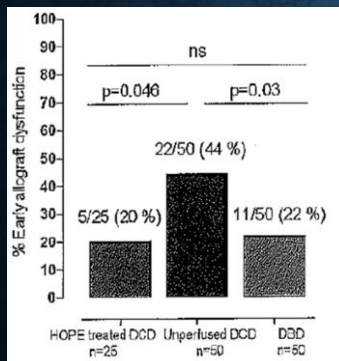
対照群50例

TIT; 6~7時間

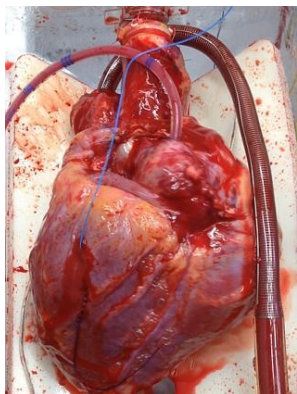
門脈灌流のみ

An International-matched Case Analysis

Ann Surg 2015;262 (5)764-771



今までの常識を覆し心停止後の、脳死下でない心臓も灌流保存技術で移植可能となった



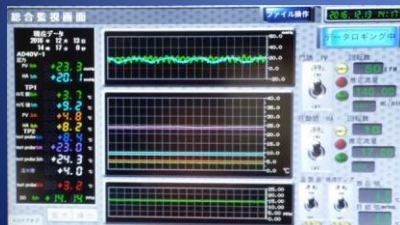
St Vincent's Hospital Heart Lung Transplant Unit, Professor Peter MacDonald (2014)

Tokyo Metropolitan <http://www.theaustralian.com.au/news/worldfirst-dead-heart-transplant-at-sydneys-st-vincent-s-hospital-a-game-changer/story-e6frg6n6-1227099798041>

49

実用化を目指す灌流型保存装置

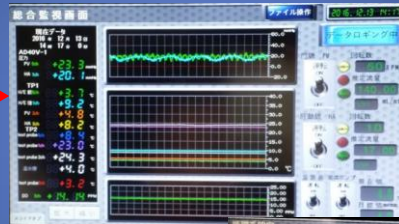
- 開発で目指した機能
 - a) 操作が容易である事 ⇒ タッチパネル
 - b) 温度の調節ができる事 ⇒ 4°C~22°C
 - c) 流量・圧力調節 ⇒ チューブポンプの回転数
 - d) 酸素濃度測定 ⇒ 連続測定



灌流型臓器保存装置

- タッチパネル

- 総合監視画面



- 循環系
設定画面



- 温調系
設定画面



現在は、腎臓、肝臓両用保存装置



灌流装置の開発状況

29.2.16 日経産業新聞



移植用肝臓 長持ち

旭川医大と中央精工 保存装置を試作

旭川医大と中央精工が、肝臓移植に用いる肝臓の保存装置を試作した。この装置は、肝臓の温度を一定に保ち、酸素と栄養を供給することで、移植後の生存率を向上させることが期待されている。また、装置は、肝臓の温度を一定に保ち、酸素と栄養を供給することで、移植後の生存率を向上させることが期待されている。

タッチパネル式で温度制御管理、流量制御管理可能、酸素消費給量も表示できる

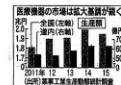


日経新聞、日経産業新聞、北海道医療新聞などで取り上げられた



マイクロ孔 注射器部品を増産へ

セーコー 脈拍異常検知のマット



医療機器の市場は拡大傾向が続く
国内市場
2014 17.1
2015 17.5
2016 17.9
2017 18.3
2018 18.7

道内の中小製造業

健康・医療分野に照準

道内の中小製造業は、健康・医療分野に注力している。特に、医療機器の製造や、医療用材料の開発に力を入れている企業が多い。また、道内の中小製造業は、健康・医療分野に注力している。特に、医療機器の製造や、医療用材料の開発に力を入れている企業が多い。

灌流保存装置を用いた臨床研究

- 50例程度をめやすに日本のデーターを(他施設共同研究)を世界に
- 装置はまず供与(無償)(旭川医大、国立成育医療研究センターで実験中)
- 灌流保存液と回路は共同研究費で?
- 試験デザイン

11th ELTR Workshop

9th ELITA Meeting
FROM STATIC TO DYNAMIC LIVER
PRESERVATION: ENTERING A NEW ERA

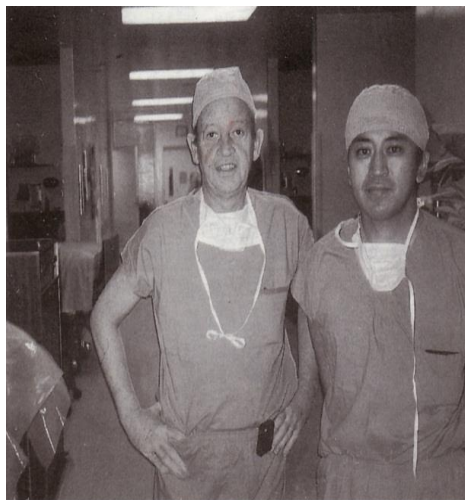
24 - 25
November
2016
Paris,
France

単純浸漬冷却
保存からダイナ
ミックな臓器保存
へ

本日のメッセージ

- 臓器保存学は、臓器提供を活性化する
- 脳死ドナーはすべてがベストの臓器ではない。高齢者ドナーよりも心停止ドナーのほうが良い成績を得ることもある。
- 灌流保存技術を使えば術前にグラフトの機能評価が出来る
- 欧米では普及しアジアではまだ。移植医療技術の多施設共同研究を行いたい

Prof. Belzer and Machine preservation



臓器移植外科の頂点 Belzer 主任教授と手術後に