

京都大学教育研究振興財団助成事業 成 果 報 告 書

2019年6月13日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所属部局・研究科 京都大学大学院 医学研究科 外科(肝胆膵・移植外科)

職 名・学 年 大学院博士課程 3回生

氏 名 後藤 徹

助 成 の 種 類	平成 30 年度 ・ 在外研究助成	
研 究 課 題 名	恒温体外灌流を用いた境界肝移植グラフトの機能評価と機能改善	
受 入 機 関	Toronto Organ Preservation Laboratory, Toronto General Hospital Research Institute at the University Health Network	
渡 航 期 間	2018年 6月 18日 ～ 2019年 3月 31日 (2020年12月31日帰国予定)	
成 果 の 概 要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()	
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1, 015, 000円
	使用した助成金額	1, 015, 000円
	返納すべき助成金額	0円
	助成金の使途内訳	渡航費用、滞在費等
当財団の助成について	<small>(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 大学院生の留学に際し、多大な助成金を頂き、大変感謝しております。中間報告を義務化し、長期の海外留学(1年以上)に対する助成もあと大変感謝致します。</small>	

京都大学教育研究振興財団助成事業
成果報告書

平成 30 年度 在外研究助成
後藤 徹

研究課題名：

恒温体外灌流を用いた境界肝移植グラフトの機能評価と機能改善

受入機関：

Toronto Organ Preservation Laboratory,

Toronto General Hospital Research Institute at the University Health Network

成果の概要：

2018 年 6 月にカナダ国トロント大学の上記研究室に留学し、大動物（ブタ）を用いた体外灌流実験を行った。研究内容は、境界臓器（死後肝）における恒温体外灌流下での正確な肝臓移植グラフトの機能評価法の探索であり、下記の如く ICG（インドシアニングリーン）に着目し、研究を行った。Preliminary data を供覧する。

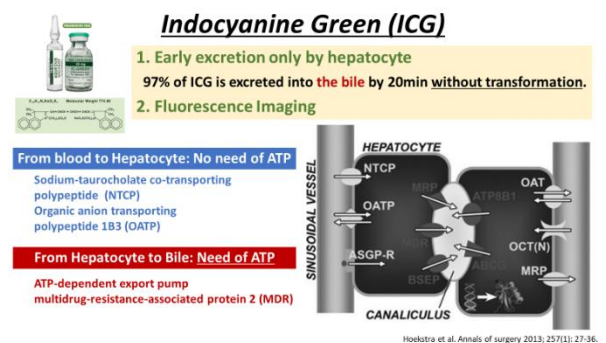
背景：

欧米諸国では、動物実験のみならずヒト臨床において移植前に摘出臓器を体外灌流保存する Ex vivo machine perfusion (MP)の導入により、従来の単純冷保存に伴う冷温障害および虚血再灌流障害の軽減に成功し、境界臓器（高齢ドナー、心停止後ドナー(DCD)、脂肪肝など）の安全な移植に成功している。恒温体外灌流は酸素および栄養を供給することにより体内と同じ環境を再現し、灌流中に臓器の機能測定が可能であるが、全肝機能を正確に評価する方法は未だ研究途中である。

今回我々は、肝臓からのみ早期に代謝/排泄される ICG に着目し、灌流中にその排泄率を ICG 蛍光カメラで解析して肝臓全体の Viability を評価する新手法の確立を目指した。

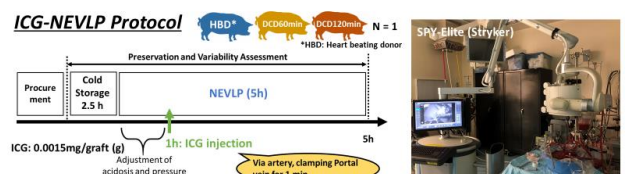
手法：

ブタモデルにて脳死肝(正常肝)、DCD60 分肝（血流遮断後 60 分経過後に臓器保存液を灌流、中程度障害肝）、DCD120 分肝（高度障害肝）を作成し、2 時間の冷保存後に恒温体外灌流を開始した。血圧、灌流液の pH 等調整後、灌流開始から 1 時間後に ICG を投与し、その後 4 時間にわたり経時的に肝臓を蛍光カメラ(SPY Elite system, Stryker)にて撮影し、蛍光強度は Image J (National Institutes of Health)にて解析した。



Hypothesis and Methods

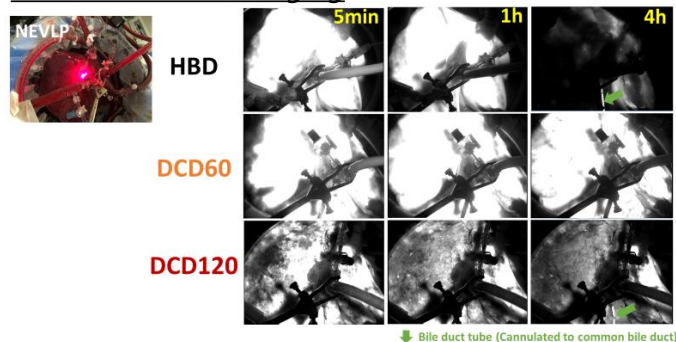
1. ICG imaging detects arterial ischemic area by injecting ICG via hepatic artery with clamping portal vein in Donor after cardiocirculatory death (DCD) liver graft.
2. ICG imaging classifies the liver function by demonstrating the delay of uptake and excretion of ICG by hepatocyte that suggests low metabolic activity.
3. Bile cumulative amount of ICG reflects viable hepatocytes and predicts primary-nonfunction graft after liver transplantation.



結果：

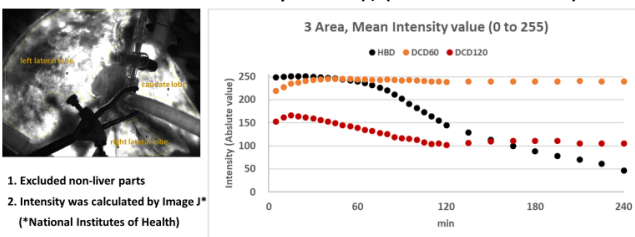
正常肝では早期に蛍光が消失(胆汁内に排泄)されたが、中程度障害肝では傾向は残存し、高度障害肝では蛍光の最大強度も低くかつ蛍光は残存していた。

ICG Fluorescence imaging



Intensity of Whole Liver Parenchyma

Mean intensity = (Area1 × mean intensity of Area1 + Area2 × mean intensity of Area2 + Area3 × mean intensity of Area3) / (Area1 + Area2 + Area3)

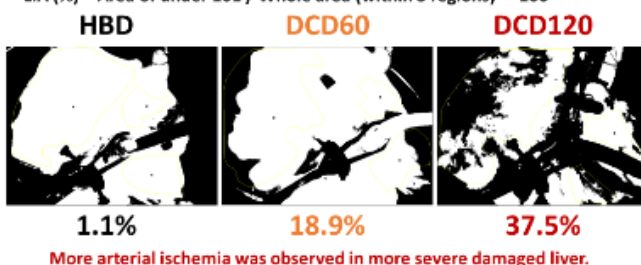


ICG intensity of whole liver reflected each liver's damage pattern.

死後肝の最も重要な移植後合併症である非吻合部の肝内胆管狭窄に対し、動脈血流の評価は重要な役割を果たす。今回我々は動脈からICGを投与し、全肝の蛍光排泄と同時にその早期蛍光分布を評価した。結果、障害肝ほど早期の低灌流領域(40%最高輝度)は増加し、DCD120では37.5%であった。

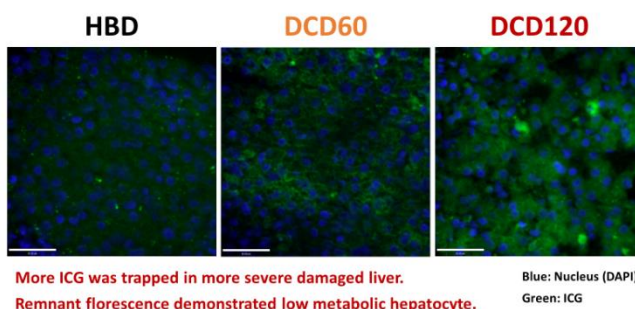
Low intensity area (50 sec after injection)

- LIA definition: Intensity is from 0 to 100 (<40% of Maximum intensity:255)
- LIA (%) = Area of under 101 / Whole area (within 3 regions) × 100



また4時間の灌流後に肝実質組織を採取し、その蛍光度を蛍光顕微鏡にて評価した。障害が強いほど、肝臓内にICGは多量に残存しており、上記の肝全体の蛍光度評価を支持する結果であった。

ICG Fluorescence microscopy



展望：

ICGを用いた評価法は非侵襲的で簡便な方法であり、ダメージに応じて障害肝を明白に区分した。ほぼリアルタイムに肝機能の評価できる手法は大変有用性が高く、現在更なるデータの蓄積と移植モデル(術後肝不全の評価)を継続実験中である。