

# 肺移植のための凍結高浸透圧液保存肺移植片に関する形態学的及び機能的な研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 英年 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/988">http://hdl.handle.net/10271/988</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 135号	学位授与年月日	平成 4年 3月26日
氏名	鈴木英年		
論文題目	肺移植のための凍結高浸透圧液保存肺移植片に関する形態学的及び機能的な研究		

医学博士 鈴木英年  
論文題目

肺移植のための凍結高浸透圧液保存肺移植片に関する形態学的及び機能的な研究

論文の内容の要旨

肺は移植臓器の中でも強い拒絶反応を示す臓器であるばかりでなく、肺胞-毛細血管床の虚血により著しい細胞障害を起こす臓器である。したがって、肺移植を成功させるための最も重要な条件は、移植肺組織の適切な保存である。これまで開発された主な肺保存法は0℃以上の液体による方法であり、肺保存時間は臨床的に約6時間が限界とされている。一方、臓器の長期保存を期待できる方法として、凍結防止剤により氷晶形成を防ぐ凍結保存法が提唱されているが、機能面でまだ問題が残されている。そこで、適切な肺凍結保存法を確立するため、近交系小動物のラットを用いて基礎的研究を行った。凍結保存液として我々が新たに改良した液を用いて移植肺を保存した際の肺の微細構造の変化を形態学的に検討し、さらに保存肺を同種同系ラットに同所性移植を行った際の機能的な変化を検討した。

【方法】

動物は近交系雄DAラット(RT1<sup>a</sup>)を用い、保存液として新たに作製した高浸透圧液(HOSS: Hyper Osmolar Solution, Harada-Okamura-Suzuki's Solution)を、対象液として浸透圧が335mOsm/LのEuroCollins Solution (ECS)を使用した。HOSSは、10% glycerolと5% DMSO (dimethyl-sulfoxide)を含む約1,160mOsm/Lの高浸透圧液である。HOSSまたはECSを心臓右室より灌流した肺移植片を同じ保存液中に浸漬し、中心温度が-10℃及び-196℃になるまで凍結した後、37℃恒温槽で解凍し微細構造の変化を顕微鏡及び電顕で比較検討した。さらに保存肺を同系ラットに同所性移植をした後、左肺静脈血液O<sub>2</sub>ガス分析を行った。なお、移植はラットを気管内挿管後人工呼吸器で維持し実体顕微鏡下無菌状態で、Marck修正手術法に準じて行った。

【結果】

- (1) 顕微鏡上、ECS凍結保存肺では肺胞中隔の肥厚像、血管周囲の浮腫像、細気管支上皮の剝離像などがみられた。一方、HOSS凍結保存肺では肺胞中隔の肥厚と血管周囲の浮腫像は軽度であった。
- (2) 電顕上、ECS凍結保存肺では-10℃ですでに肺胞-毛細血管床の破壊像が部分的に観察された。特に血管内皮細胞の変性は著しく、毛細血管内腔は網状変性物による閉塞状態を示し、-196℃ではさらに高度の細胞障害像が見られた。それに対しHOSS凍結保存肺では、-10℃での血管内皮細胞の一部軽度の細胞質の浮腫と小さなブレッグが見られた以外、著明な変化は認められなかった。しかし、肺胞上皮細胞はその電子密度が軽度低下していた。-196℃では、基底膜と肺胞上皮細胞間及び血管内皮細胞間の浮腫の程度は進行しており、一部に剝離像がみられたが、基本構造の断裂破壊像は見られなかった。
- (3) 機能的な検索として、左肺静脈酸素分圧(Ppvo<sub>2</sub>)を測定した結果、HOSSで灌流し-10℃に凍結した肺移植片においてのみ、術後60分値でも100mmHg以上のガス分圧が維持されていることが明らかにされた。

【考案】

肺保存法の研究は、1950年代以来そのほとんどが0℃以上で、しかも大動物を使用して行われた。その際、保存肺の移植後に起こる拒絶反応に対して免疫抑制剤やステロイドを使用するため、保存肺の的確な形態学的及び機能的な判定を行うことが困難であった。

今回我々は、近交系ラットにおける肺移植法を工夫確立することに成功し、さらに凍結防止剤として有効なDMSOとglycerolを使用した新しい高浸透圧液を改良し、肺凍結保存の可能性を形態学的及び機能的に検討した。ECS保存肺は、-10℃ですでに肺胞-毛細血管床が強い障害を受け、著しい機能低下がみられた。それに対しHOSS保存肺では、形態学的に血管内皮細胞と基底膜の保存状態が極めて良好であった。しかも、-10℃に凍結した場合、肺静脈O<sub>2</sub>分圧測定で見ると肺機能は保持されていた。

以上の所見から、我々の改良したHOSSは肺の血管内皮細胞と基底膜の凍結保存に有効であるとともに、少なくとも-10℃までの肺凍結保存が可能であることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

肺の移植にあたって克服されなければならない課題は、肺の拒絶反応が強いことと、肺が虚血にきわめて弱い組織構築をもつということである。したがって、6時間を保存の限度とする現在の標準的非凍結保存法では不十分であり、長期保存を可能にする肺に適した凍結保存法の開発が必要である。

このような見地から本論文審査申請者は、自身の工夫になる高浸透圧液 HOSS (Hyper-osmolar Solution; Harada-Okamura-Suzuki's Solution)と標準的保存液 Euro-Collins Solution (ECS) の近交系ラット肺(DA雄ラット左肺)に対する凍結解凍の影響を検討した。

この研究の主要な結果と特徴はつぎのようである。

1. 中心温度実測下に $-10^{\circ}\text{C}$ あるいは $-196^{\circ}\text{C}$ に凍結、つづいて解凍した肺の組織障害を光顕、透過電顕、走査電顕により観察した
2. 凍結保存した肺を用いて同所性移植を行い、移植側肺静脈酸素分圧を測定することにより移植肺機能の指標とした
3. HOSS、 $-10^{\circ}\text{C}$ 保存肺は移植後の機能が良好であり、HOSSは $-10^{\circ}\text{C}$ までの肺凍結保存に有効であると判断できた
4. HOSS、 $-196^{\circ}\text{C}$ では移植肺機能は不可逆的低機能を示したが、機能障害の原因はECS凍結保存肺あるいは従来の報告にみられる肺胞中隔血管内皮細胞の障害ではなく、氷晶形成によると考えられる比較的軽度な肺胞上皮細胞の障害である可能性を示した
5. 凍結肺中心温度測定結果から、氷晶形成防止には凍結と解凍の時間および速度を一定にすることが氷晶形成防止に有効であると推定した

本論文審査委員会は本論文が臓器移植において重要な意味をもつと考えられる肺の長期保存の可能性を示したものと高く評価した。

なお、本論文審査の過程において以下のような質疑応答があった。

- 1) 高浸透圧保存液の必要性および処方の理論的根拠
- 2) ECS凍結において温度下降の悪い理由
- 3) HOSSに対する対照液としてECSは適当か
- 4) HOSS使用において内皮細胞に比べ肺胞上皮細胞の保存が悪い理由
- 5) II型肺胞上皮細胞の層板小体あるいはsurfactant肺胞上皮表面に凍結による変化はないか
- 6) dimethyl sulfoxideの組織障害性を吟味したか
- 7) HOSSにプレドニンを加えなかった理由
- 8) 急速凍結解凍の利点および欠点
- 9) 保存液で気腔を充たす必要はないか
- 10) 肺の部位による温度分布の不均一性についての考慮はなされたか
- 11) HOSSの臨床応用にいたるまでの問題点

これらに対する申請者の回答は適切であり、さらに関連諸問題についての展望と、すでに検討されつつある課題の妥当性を確認し、審査委員会は本論文が博士(医学)の学位授与に値する内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	白澤春之			
	副査	教授	河邊香月	副査	教授	吉田孝人
	副査	助教授	佐藤篤彦	副査	助教授	宮本愛