

# 主論文

①  
脳死，循環停止，ウロキナーゼ投与が移植肺微小血管透過性に及ぼす影響についての実験的検討

岡山大 第2外科

松田 英祐

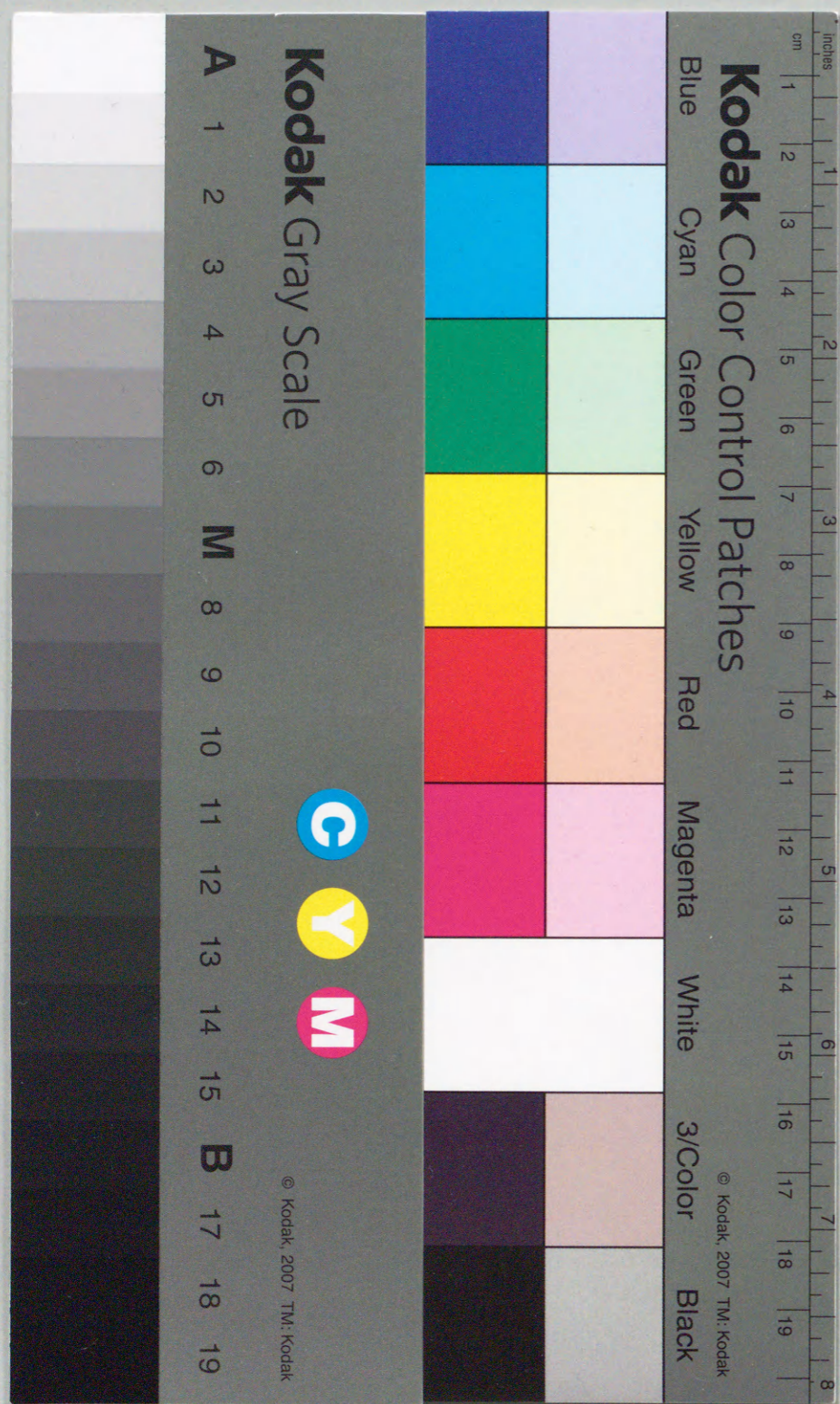
(1998・7・6 受領, 1998・10・16 受理)

1998・12 発行

移植 (Vol. 33 No. 6)

〈日本移植学会雑誌〉

抜刷



● 原著

脳死，循環停止，ウロキナーゼ投与が移植肺微小血管透過性に及ぼす影響についての実験的検討

松田 英祐

The Effects of Brain Death, Circulatory Arrest, and Urokinase Administration on the Donor Lung Microvascular Permeability in Pulmonary Transplantation

Eisuke Matsuda

Department of Surgery II, Okayama University Medical School

【Summary】

The effects of brain death, cardiac arrest and cold preservation on rabbit lung microvascular permeability were studied. In addition the effect of urokinase infusion to pulmonary artery in cardiac arrest model was also studied. Capillary filtration coefficient (Kf) was measured as an index of lung microvascular permeability. Initial study consisted of following groups. Heart beating group: lungs were extirpated on heart beating. Brain death group: lungs were extirpated after one-hour-brain death. The second study consisted of cardiac arrest group: lungs were extirpated after cardiac arrest for one hour, and urokinase infusion group: lungs were extirpated after cardiac arrest for one hour, and urokinase (60000 units) was injected into pulmonary artery. Each group was divided into three subgroups by preservation time (non preservation, 6 hours preservation, 24 hours preservation). Urokinase infusion group was divided into two subgroups (6 hours preservation, 24 hours preservation). Six hours cold preservation did not increase lung microvascular permeability, but 24 hours cold preservation increased lung microvascular permeability. Brain death did not affect lung microvascular permeability. Cardiac arrest for one hour increased lung microvascular permeability, additional cold preservation increased lung microvascular permeability. Urokinase infusion into pulmonary artery improved lung microvascular permeability significantly. Urokinase may make clinical lung transplantation from non-heart-beating donors practicable.

**Key words**: Non heart beating donor,  
Cold preservation,  
Microvascular permeability,  
Urokinase

I. はじめに

肺移植は，欧米では末期呼吸不全患者に対する日常的医療となっている。しかし肺移植の適応症例が増えるに伴い，ドナー不足が深刻な問題となっている。我が国においても脳死者からの移植が行われるようになって，ドナー不足に直面することが予想される。長時間の冷保存を経た肺や死体肺を移植に用いる事

が可能となればこの問題の解決策となりうると考えられる<sup>1,2)</sup>。移植に死体肺を用いるにあたっての問題点として、肺微小血管内に生じる血栓による悪影響が考えられる<sup>1,3)</sup>。また肺移植後の肺機能障害は虚血再灌流障害が関与しており、虚血再灌流障害は肺微小血管透過性を亢進させる事も明らかとなっている<sup>4,5)</sup>。今回我々は実験1で脳死が、実験2で心停止が肺微小血管透過性に及ぼす影響を検討し、また心停止の影響がウロキナーゼにより抑制されるか否か検討した。

## II. 対象と方法

体重 3.0~3.5 kg の雄性白色兔を使用し以下の2つの実験を行った。実験は岡山大学医学部動物実験指針(平成元年4月1日施行)に乗取って行った。

### (実験1)

#### 実験群

実験は以下のように各実験群を設定した。

心拍動群 (n=15) : 心拍動下に心肺を摘出した。

脳死群 (n=15) : 頭蓋内バルーン法<sup>6)</sup>により脳死状態を作成し、脳死状態を1時間維持した後、心拍動下に心肺を摘出した。

また摘出から移植までの肺の状態を時間を追って評価すべく、各群を非保存 (n=5)、6時間保存 (n=5)、24時間保存 (n=5) の3つのサブグループに分けた(表1)。

#### 肺の摘出および保存

兎は前投薬として atropine sulfate (0.25 mg/kg), ketamine hydrochloride (35 mg/kg) を筋注した後 thiamylal sodium (25 mg/kg) を静注し全身麻酔とした。直ちに気管切開し、気管内チューブ (Portex Ref. 100/111/040) を挿入し、これを人工呼吸器 (Model SN-480-5, SHIMANO, Tokyo, Japan) に接続し一回換気量 10 ml/kg, 毎分 25 回, 100% 酸素にて換気した。胸骨正中切開後、上行大動脈と肺動脈にテーピン

表1 心拍動群, 脳死群を設定し, 各群を非保存, 6時間保存, 24時間保存の3つのサブグループに分けた。

	非保存 グループ	6時間保存 グループ	24時間保存 グループ
心拍動群	n = 5	n = 5	n = 5
脳死群	n = 5	n = 5	n = 5

グを行った。右室壁から肺動脈に外径 2.75 mm のカテーテル (multi purpose tube, ATOM, Tokyo, Japan) を挿入し挿入部において 3-0 ポリプロピレン糸で固定した。心拍動群ではこのまま換気を行いながら low potassium dextran glucose (以下 LPDG) 液<sup>7)</sup> による肺のフラッシングにうつり、脳死群では胸骨正中切開の前に脳死状態とし、脳死状態を1時間維持した後フラッシングを行った。脳死作成は以下の様に行った<sup>6)</sup>。気管内挿管後、右頸動脈に動脈ラインを挿入し動脈圧を持続的に計測した。右側頭部より 6 Fr パルーンカテーテルを挿入し、生理食塩水 3 ml で膨張させた。この際動脈圧は 180~200 mmHg にまで上昇した。この後速やかに下降し、輸液や昇圧剤を投与する事なく 50~60 mmHg で安定した。バルーン膨張 10 分後にバルーンを虚脱させた後再膨張させ、この時動脈圧が上昇しない事を確認し脳死と判断した<sup>6)</sup>。もし動脈圧が上昇すれば上記操作を 10 分毎に繰り返した。

フラッシングおよび摘出は以下の様に行った。肺動脈をカテーテル周囲で結紮、さらに大動脈を結紮した。左房を一部切除し排液口とし 4°C の LPDG 液 200 ml で 45 cm の高さからフラッシングを行った。フラッシング終了後上大静脈, 下大静脈を結紮し心臓, 肺, 食道を一塊として摘出した。摘出後左房に肺動脈を挿入したものと同一カテーテルを挿入し固定し、さらに食道につり下げ用のプラスチック棒を挿入した。非保存グループではこの後直ちに評価を行った。保存グループでは肺を 100% 酸素 10 ml/kg で膨張させた状態で気管をクランプし、4°C の LPDG 液を満たしたプラスチックボックスに浸漬し 4°C の保冷庫にて保存した後、評価を行った。保存時間はフラッシング開始から保存ケースより心肺ブロックを取り出すまでとした。評価方法は実験2と共通であり後述する。

### (実験2)

#### 実験群

実験群は以下の様に設定した。

心停止群 (n=15) : KCl にて心停止せしめ、1時間室温下に放置した後心肺を摘出した。

心停止後ウロキナーゼ群 (n=10) : 心停止群と同様に心停止せしめ、1時間室温下に放置した後心肺を摘出した。摘出に際し肺動脈内にウロキナーゼ 6 万単位を投与した。

実験1と同様に心停止群を非保存、6時間保存、24時間保存の3つのサブグループに分け、心停止後ウロキナーゼ群を6時間保存、24時間保存の2つのサブ

表2 心停止群, 心停止後ウロキナーゼ群を設定し, 前者を非保存, 6時間保存, 24時間保存の3つのサブグループに, 後者を6時間保存, 24時間保存の2つのサブグループに分けた。

	非保存 グループ	6時間保存 グループ	24時間保存 グループ
心停止群	n = 5	n = 5	n = 5
心停止後 ウロキナーゼ群		n = 5	n = 5

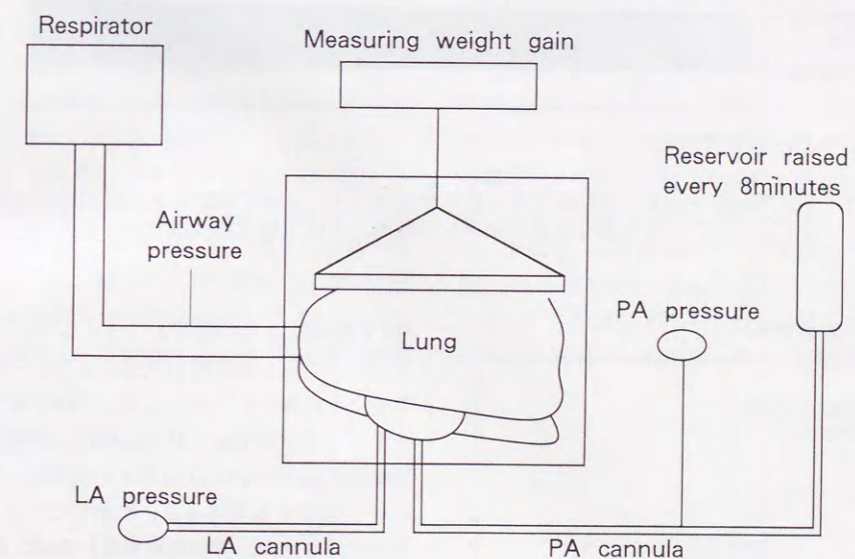


図1 評価法のシェーマ。リザーバーを8分毎に上昇させる事で、血管内静水圧を上昇させ、心肺ブロックの重量増加を測定する。

グループに分けた(表2)。

#### 肺の摘出および保存

実験1と同様に麻酔を行った。心停止群ではフラッシングの前に KCl 2 ml を心腔内に投与し心停止せしめ、1時間室温下に放置した後フラッシングを行った。心停止後ウロキナーゼ群では、摘出に際しウロキナーゼ 6 万単位を LPDG 液 5 ml に溶解し肺動脈内に投与した。

フラッシングおよび摘出、保存も実験1と同様に行った。

#### 評価方法

評価方法は Haniuda<sup>8)</sup>らの方法を用い、濾過係数 (Kf) を算出し肺微小血管透過性の指標とした。概説す

れば、気管内に外径 4mm のチューブ (SC-407, TERUMO, Tokyo, Japan) を挿入した。心肺ブロックを重量トランスデューサー (9E 01-L 45-50, NEC San-ei, Tokyo, Japan) から食道に通した支持棒にてプラスチックの箱の中につり下げ、箱の中を 37°C に設定した。さらに重量トランスデューサーをポリグラフ (POLYGRAPH 360 system, NEC San-ei, Tokyo, Japan, OMNI-ACE RT 2108 A, NEC San-ei, Tokyo, Japan) に接続し重量変化を記録した。肺動脈カテーテルを pH 7.35~7.45 に調整した評価液 (Hespander ; hydroxyethyl starch 6.0 g/100 ml, NaCl 0.5 g/100 ml, KCl 0.03 g/100 ml, CaCl<sub>2</sub> 0.02 g/100 ml, sodium acetate 0.224 g/ml, glucose 1.0 g/ml ;

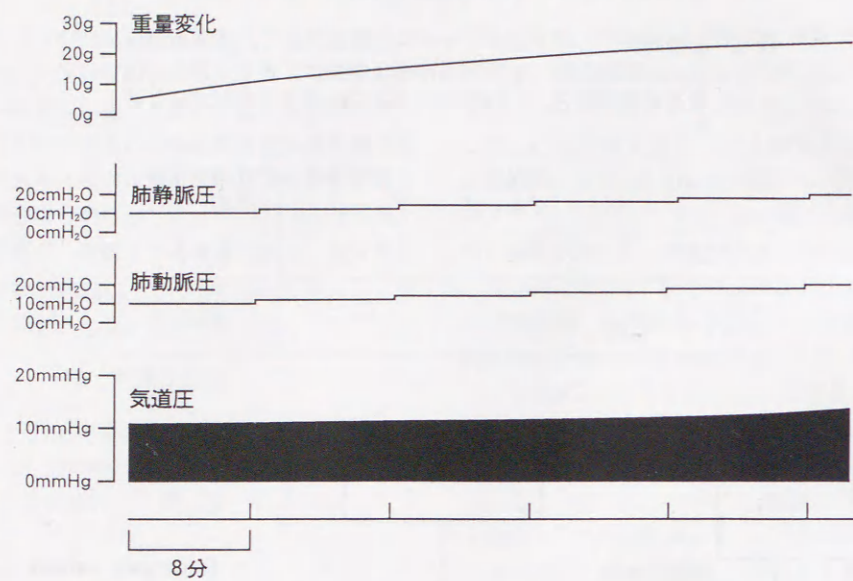


図2 サンプルチャート. 肺動脈圧を上昇させると, 1~2分で肺静脈圧は肺動脈圧と等しくなる. この時急激な重量増加がみられる. 以後重量増加は緩やかとなる.

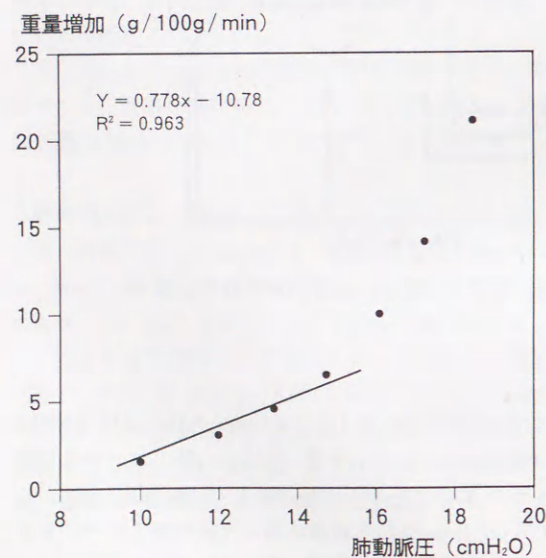


図3 各肺血管内圧における重量増加率のグラフ. 低い肺血管内圧では, 一定の傾きをもった直線に回帰される. 肺血管内圧が高くなるにつれ, 曲線的に増加する.

Kyorin pharmaceutical, Tokyo, Japan) の入ったリザーバーに接続した(図1). 気管内チューブを人工呼吸器に接続し room air で一回換気量 10 ml/kg, 毎分 25 回の設定で換気を行った. 評価に先立ち, 評価液 50

ml で肺動脈より肺血管のフラッシングを行った. フラッシング圧は吸気時の気道圧より 1~2 mmHg 高くなるように保った. フラッシング終了後左房カテーテルを圧トランスデューサーに接続し評価を開始した. 肺動脈圧は 10 cmH<sub>2</sub>O の高さから開始して, リザーバーを上昇させる事により, 8分毎に 1.0~2.0 cmH<sub>2</sub>O ずつ上昇させた. 評価を行っている間, 肺動脈圧, 肺静脈圧, 気道圧, 心肺ブロックの重量は持続的に記録した.

#### 測定データ処理

肺動脈圧を上昇させると, 直ちに心肺ブロックの重量の急速な増加が見られる. この急速な重量増加は, 静水圧の上昇による血管, 心腔の容量増加によるものであると考えられる. 続いて肺の重量増加は緩徐となり, この際に肺間質への静水の濾過が生じていると考えられ, 8分間のうちの最後の3分間の重量増加を濾過係数算出のために用いた(図2).

評価終了後に肺を切除し残りの組織の重量を測定した. 評価前的心肺ブロックの重量から肺切除後の組織の重量を引いて評価前の肺の重量を算出した. 肺組織 100 g の 1分あたりの重量増加を肺動脈圧に対してプロットした(図3). 肺動脈内静水圧が低い範囲では一定の傾きをもった直線に回帰され(定常増加相), 肺動脈内静水圧が高い範囲では曲線的な急速な重量増加を

示す(急速増加相)二相性の重量変化を認める.

#### 濾過係数 (Kf) 測定の理論

濾過係数 (Kf) は肺微小血管透過性の有用な指標の一つである. 本実験では肺動脈静水圧(Ppc)を段階的に上昇させ, 各段階での肺の重量増加率 (Jv) を計測した. 濾過係数 (Kf) は, 静水圧変化 ( $\Delta Ppc$ ) に対する肺重量増加の変化 ( $\Delta Jv$ ) の割合として算出した. 計算式として以下の様になる.

$$Kf = \Delta Jv / \Delta Ppc \quad \text{式(1)}$$

しかし実際には, 肺微小血管透過性には組織内静水圧 (Pt), 血管内浸透圧 ( $\pi c$ ), 組織内浸透圧 ( $\pi t$ ), 蛋白の反発係数 ( $\sigma$ ) が関与しており Starling の法則から以下の式が成り立つ.

$$Jv = Kf [(Ppc - Pt) - \sigma (\pi c - \pi t)] \quad \text{式(2)}$$

式(2)において静水圧 (Ppc) が変化する場合  $\pi c$ ,  $\pi t$ , Pt,  $\sigma$  が一定であれば式(1)が成り立つ. Ppc を変化させると  $\pi t$ , Pt も変化する事が報告されているが, Drake<sup>9)</sup> は  $\pi t$  の変化は Ppc の変化の 15% 以下であると報告し, また Parker<sup>10)</sup> は Pt の変化は極めて小さいと報告している. 従って今回の検討では誤差は極めて軽微なものであったと思われる式(2)は式(1)と近似できる<sup>8)</sup>. 今回我々もこの理論に基づき, 肺血管内静水

圧 (Ppc) に対し単位時間, 単位肺重量あたりの重量増加 (Jv) をプロットし定常増加相の傾きをもって Kf とした. 図3は心停止後ウロキナーゼ群 24時間保存グループの1例で, この場合の濾過係数(Kf)は 0.778 g/100 g/min/cmH<sub>2</sub>O となる.

4点を使用し回帰係数が 0.96 以上を有意とした. 算出した Kf は平均±標準偏差で表した. 各群間の Kf の検定は t 検定を用いて,  $p < 0.05$  を有意とした.

### III. 結果

#### (実験1)

心拍動群において Kf は非保存グループで 0.338 ± 0.143 g/100 g/min/cmH<sub>2</sub>O であり, 6時間保存グループ, 24時間保存グループでは Kf は各々 0.382 ± 0.167, 0.598 ± 0.134 であった. 非保存グループと 6時間保存グループの間では Kf に有意差を認めなかったが, 24時間保存グループでは Kf は非保存グループ, 6時間保存グループに比べ有意に上昇した ( $p < 0.05$ ). 脳死群では, 非保存, 6時間保存, 24時間保存の各グループで各々 Kf は 0.468 ± 0.044, 0.512 ± 0.092, 0.909 ± 0.130 であった. 非保存グループと 6時間保存グループの間に有意差は認められなかったが 24時間保存グループ

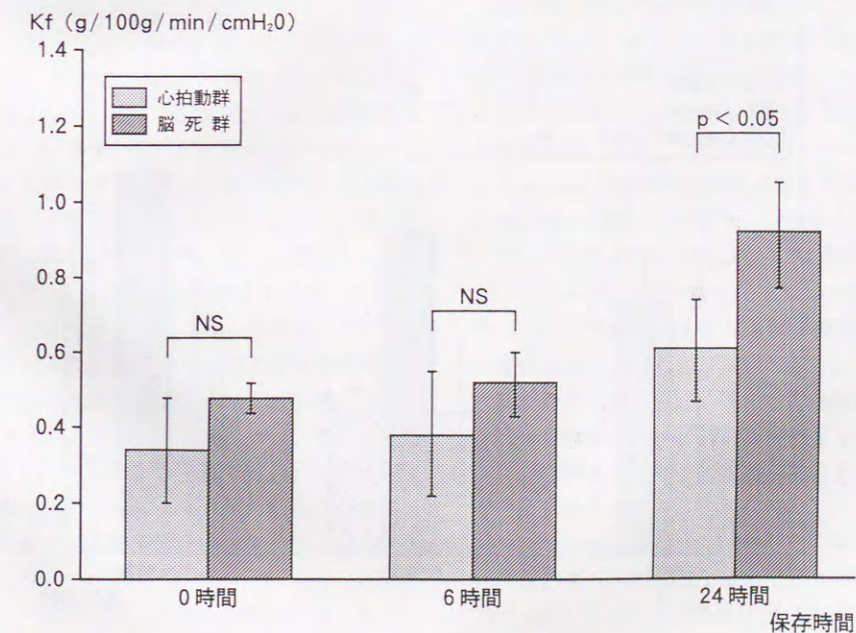


図4 心拍動群と脳死群の比較. 非保存, 6時間保存では, Kf は両群間に差は見られなかった. しかし 24時間保存では脳死群において Kf は心拍動群より有意に上昇した.

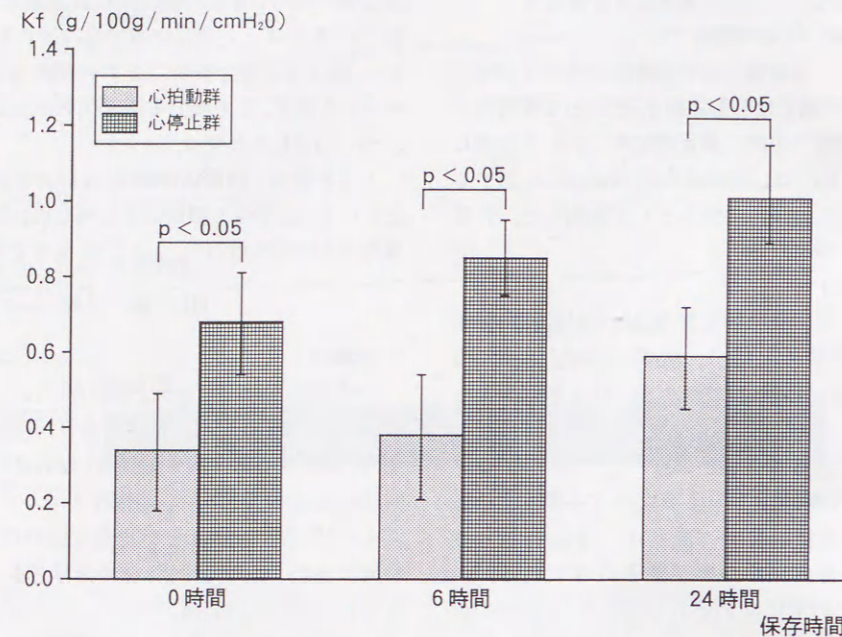


図5 心拍動群と心停止群との比較. 心停止群のKfは, 全てのサブグループで心拍動群に比べ有意に上昇していた.

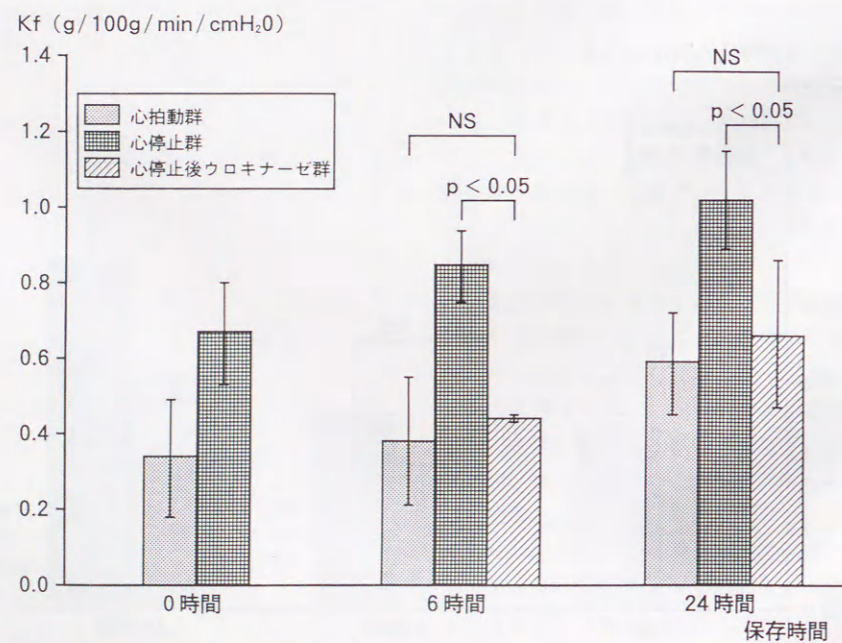


図6 心拍動群, 心停止群, 心停止後ウロキナーゼ群の比較. 心停止後ウロキナーゼ群のKfは, 各サブグループで心停止群より有意に低く, また心拍動群と有意差を認めなかった.

ではKfは非保存グループ, 6時間保存グループに比べ有意に上昇した. 心拍動群と比較すると, 非保存, 6時間保存の両グループではKfは心拍動群の非保存, 6時間保存グループと有意差は認められなかったが, 24時間保存グループではKfは心拍動群の24時間保存グループに比べ有意に上昇した(図4).

#### (実験2)

心停止群では, Kfは非保存, 6時間保存, 24時間保存の各グループで各々,  $0.675 \pm 0.136$ ,  $0.854 \pm 0.098$ ,  $1.027 \pm 0.130$ であった. 非保存グループでKfは心拍動群非保存グループに比べ有意( $p < 0.05$ )に上昇しており, 6時間, 24時間と保存するに伴い, Kfはさらに上昇し, 全てのサブグループで心拍動群より有意に( $p < 0.05$ )上昇した(図5).

心停止後ウロキナーゼ群では, Kfは6時間保存グループで $0.449 \pm 0.010$ , 24時間保存グループで $0.674 \pm 0.197$ であった. 両サブグループでKfは心停止群に比べ有意( $p < 0.05$ )に低下しており, また6時間保存グループでは, 心停止群非保存グループよりも有意に改善されていた. また心拍動群と比べても6時間保存, 24時間保存の両サブグループで有意差を認めず, 6時間保存グループでは心拍動群非保存グループとも有意差を認めなかった(図6).

#### IV. 考察

今日, 欧米では肺移植は終末期呼吸不全に対する一般的な治療となっているが, 脳死者からの臓器提供には限りがあるため移植待機時間の延長や移植症例数の頭打ちなどの問題を生じている. その問題の解決策として心停止ドナーからの移植があげられる. 今回摘出から移植までの肺の状態を時間を追って検討すべく実験群を設定した. また心停止の影響をマスクしない様, 心停止モデルにはヘパリン投与等の処置は一切行わなかった. 今回我々の実験では, 心停止を2時間負荷すると定常増加相の傾きの回帰係数が0.96以上とならず, Kfが算出不可能であったため心停止, 温阻血時間は1時間とした. また, 既に欧米で行われている脳死肺移植と比較するため脳死群を設定し, 脳死に伴って生じられる初期の肺障害の影響を考え脳死時間を1時間とした.

心臓死により循環が停止すると臓器には様々な変化が生じる. 心停止ドナーからの肺移植を行うには, この変化を如何に防ぐかが重要である.

赤坂<sup>11)</sup>らは, 心停止ドナーからの肺が脳死ドナーか

らの肺より不都合な点として, 第一に心停止後肺が虚脱する事により, 肺の好気性代謝が阻害されること, 第二に肺微小血管内に血栓が形成される事による悪影響, 第三に各種ケミカルメディエーターによる保存中, あるいは虚血後再灌流時の障害を挙げている.

本実験では, 二番目の肺微小血管内の血栓形成に着目し血栓溶解剤であるウロキナーゼを保存時に肺動脈内に投与することで肺微小血管透過性に心停止が及ぼした影響が改善されるか検討した.

Eagan<sup>12)</sup>らは, ヘパリン投与を行わない犬死体肺移植モデルにおいて心停止後1時間後の肺, 2時間後の肺, 4時間後の肺をそれぞれ移植し比較を行った. 心停止後1時間後の肺を移植した群では5例中全て8時間生存したのに対し, 心停止後2時間後の肺, 4時間後の肺を移植した群は各々5例中2例, 4例中1例しか8時間生存しなかった.

一方Ulicny<sup>13)</sup>らは心停止後100%酸素または100%窒素で換気することで心停止後4時間経過した肺でも移植後良好な肺機能が得られるとしている. しかしUlicnyらは肺動脈内に血栓ができるのを予防するためヘパリン投与を行っている. これにより心停止後肺動脈内に血栓が生じるのを防ぐことが移植後の肺機能を改善させると示唆される.

Umemori<sup>3)</sup>らは犬死体肺移植モデルで, 冷保存時に肺動脈内にウロキナーゼを投与すると移植後血中FDP濃度の上昇する事を示した. これらの事は4°Cという低温においてもウロキナーゼの線溶活性は保たれる事を示唆している.

Thomas<sup>4)</sup>らは肺梗塞後再灌流時に, 肺動脈内の血栓に血小板が凝集し, セロトニン等のケミカルメディエーターが放出され, 血管透過性が亢進すると報告した. Staub<sup>5)</sup>らは羊の肺動脈血栓モデルで肺動脈内微小血栓に白血球が凝集し血管内皮の障害をおこし, 肺微小血管透過性を亢進させると報告した.

これらのことから, 心停止後肺動脈内に生じた血栓が肺微小血管透過性に対して悪影響を及ぼしており, これを溶解させる事で移植後の肺微小血管透過性の亢進を予防する事が可能と思われる.

今回の実験の結果, 心拍動群で6時間保存グループは非保存グループとKfは有意差が無かったが24時間保存グループではKfは有意に亢進した. このことから冷保存は6時間以内であれば, 肺微小血管透過性に障害を及ぼさないと考えられる.

脳死群では, 非保存グループ, 6時間保存グループで

Kfは心拍動群非保存グループと有意差を認めず、1時間の脳死、6時間以内の冷保存は肺微小血管透過性に影響を及ぼさなかった。しかし24時間保存グループでは、Kfは心拍動群24時間グループに比べ有意に上昇しており、脳死に長期冷保存が加わると冷保存単独よりも肺微小血管透過性をより強く亢進させた。

心停止群では、非保存グループでKfは心拍動群非保存グループに比べ有意に亢進しており、1時間の温阻血により肺微小血管透過性は有意に亢進した。6時間保存グループでは、Kfは非保存グループに比べ有意に亢進しており冷保存中に微小血管内の血栓により肺微小血管透過性が障害されていると考えられた。24時間保存グループではKfは更に有意に亢進したが、血栓の影響だけでなく冷保存の影響も関与していると思われた。

心停止後ウロキナーゼ群では、6時間保存グループにおいてKfは心停止群6時間保存グループに比べ有意に改善されており、また心拍動群非保存グループに比べても有意差が無かった。24時間保存グループでもKfは心停止群24時間保存グループに比べ有意に改善していた。心停止後ウロキナーゼ群6時間保存グループと24時間保存グループのKfがそれぞれ心停止群6時間保存グループと24時間保存グループのKfに比べ有意に改善していた事は、保存中に血栓が溶解され肺微小血管透過性の障害を予防した事を示している。

心停止後ウロキナーゼ群6時間保存グループのKfは心停止群の非保存グループのKfよりも有意に低かった。Belzer<sup>14)</sup>らは温阻血により細胞内で嫌気性代謝がおこり乳酸が発生し細胞内がアシドーシスになっている。また、Rehncrona<sup>15)</sup>らは細胞内がアシドーシスになる事で細胞が障害されるとしている。この事から1時間の温阻血により肺血管内皮に障害を来し、肺血管透過性を亢進させる事が考えられる。

ウロキナーゼを肺動脈内に投与すると血栓溶解作用の他に、浸透圧の上昇が考えられる。今回我々の実験では、LPDG液の浸透圧は413 mOsm/lであったが、LPDG液5 mlにウロキナーゼ6万単位を溶解すると浸透圧は552 mOsm/lとなった。また心停止により組織の好気性代謝が停止する事から細胞膜に存在するNa-K ATPaseの失活が起こりうる。Belzer<sup>13)</sup>らは、Na-K ATPaseが失活する事により細胞内にNaが流入するとしている。血管内Naの浸透圧は細胞内コロイド浸透圧に対抗する力でありNaの細胞内への流入は細胞内の浮腫を引き起こすとしている。また細胞内

の蛋白等によるコロイド浸透圧は約110~140 mOsm/lであり、細胞内浮腫を防ぐには血管内にこれに相当する浸透圧を加えれば良いとしている。

これらの事から1時間の心停止により細胞内浮腫が発生し肺微小血管透過性は亢進するが、冷保存時にウロキナーゼを血管内に投与する事により肺血管内の浸透圧が上昇しこれが細胞内浮腫の改善をもたらす肺微小血管透過性の低下をおこしたとも考えられる。

本実験では、実験1で脳死が肺微小血管透過性に及ぼす影響を検討した。脳死後の血行動態は脳に不可逆的变化を生じてから約30分で安定し、それ以後はほぼ同じ状態を維持する事<sup>9)</sup>から脳死状態を1時間維持した。しかし脳死状態では各種ホルモンの産生障害、それに基づく代謝等不明な点も多い<sup>10)</sup>。またラットにおいて脳虚血再灌流後30~240分にインターロイキン1の発現が最大になる<sup>17)</sup>という報告もある。インターロイキン1はインターロイキン8を誘導し、インターロイキン8は血管内皮障害を起こす事も報告されている<sup>18)</sup>。脳死を長時間にわたって維持した場合これらが肺微小血管透過性に影響を及ぼす事が考えられ、この点については今後検討を要する。また実験2では心停止後肺内微小血栓が移植後肺機能に悪影響を及ぼすという仮説に基づき血栓溶解剤であるウロキナーゼの心停止ドナーからの肺移植への有効性について検討した。ウロキナーゼは今日臨床の場で広く用いられている。しかし、脳出血等の重篤な副作用も報告されている。今回の実験では兎の肺血管容量が4~6 mlであった事からLPDG液5 mlにウロキナーゼ6万単位を溶解して投与したが至適投与量について更なる研究が必要である。またKf値についても移植に用いた場合の術後呼吸機能との相関について研究が必要と思われた。

#### V. まとめ

今回の実験の結果から、冷保存は6時間以内ならば肺微小血管透過性に影響を及ぼさなかった。しかし24時間以上の長期の冷保存は肺微小血管透過性を有意に亢進させた。1時間の脳死状態は肺微小血管透過性に影響を及ぼさず、更に6時間の冷保存を加えても肺微小血管透過性は障害されなかった。しかし1時間の脳死状態の後24時間の冷保存を加えると冷保存単独の場合よりも肺微小血管透過性を強く障害した。この事から脳死体からの肺移植において冷保存は6時間以内である事が望ましいと思われた。

1時間の心停止は肺微小血管透過性を有意に亢進さ

せた。更に冷保存を加えると冷保存単独の場合よりも強く肺微小血管透過性を障害し、心停止ドナーからの肺移植が困難である事が示唆された。

1時間の心停止を負荷した後、冷保存に際しウロキナーゼ6万単位をLPDG 5 mlに溶解して肺動脈内に投与すると、肺微小血管透過性はウロキナーゼを投与しなかった場合に比べ有意に改善された。また心拍動下に心肺を摘出した場合と比べても有意差を認めず、ウロキナーゼ投与の死体肺移植への有用性が認められた。

稿を終えるに当たり、御指導、御校閲を賜りました清水信義教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究に御教示、直接御指導頂いた青江 基助手に深く感謝します。更に研究に御協力下さった川上哲生技官ならびに教室員諸兄に感謝の意を捧げます。

#### 文 献

- 1) Kayno K, Date H, Uno K, Shimizu N, Teramoto S. Evaluation of the viability of the canine cadaver lung for transplantation. *Acta Med Okayama* 1993; 47: 329-337.
- 2) 梅森君樹. 心停止後の肺移植に関する実験的検討, 死体冷却と死体 flushing の効果について. *日呼外会誌* 1994; 8: 576-584.
- 3) Umemori Y, Date H, Uno K, Aoe M, Ando A, Shimizu N. Improved lung function by Urokinase infusion in canine lung transplantation using non-heart-beating donors. *Ann Thorac Surg* 1993; 59: 1513-1518.
- 4) Thomas D, Stein M. Mechanism of bronchoconstriction produced by thromboemboli in dog. *Am J Physiol* 1967; 206: 1207-1212.
- 5) Staub NC, Schultz EL, Albertine KH. Leukocytes and pulmonary vascular injury. *Annals New York Acad Sci* 1982; 384: 332-343.
- 6) Beppu S, Nakatani H, Izumi S, Sasaki H, Sada M, Amamiya H, Sakakibara H, Nimura Y. Effect of brain death on hemodynamics and cardiac function: An experimental study. *J Cardiology* 1987; 17: 785-796.
- 7) Date H, Matsumura A, Obo H, Lima O, Cooper JM, Sundereasen S, Lowry OH, Cooper JD. Evaluation of lung metabolism during successful 24-hr canine lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105: 480-491.
- 8) Haniuda M, Dresler CM, Hasegawa S, Patterson GA, Cooper JD. Changes in vascular permeability with ischemic time, temperature, and inspired oxygen fraction in isorated rabbit lung. *Ann Thorac Surg* 1994; 57: 708-714.
- 9) Drake RE, Smith JH. Estimation of the filtration coefficient in intact dog lungs. *Am J Physiol* 1993; 38: H 430-H 438.
- 10) Parker JC, Guyton AC. Pulmonary interstitial and capillary pressures estimated from intralveolar fluid pressures. *J Appl Respir Environ Exercise Physiol* 1978; 44: 267-276.
- 11) 赤坂尚三. 死体肺移植における recombinant tissue type plasminogen activator (rt-PA) の効果について. *移植* 1996; 31: 294-303
- 12) Eagan TM, Lambert CJ Jr, Reddick R, Ulicny KS, Keagy BA, Wilcox BR. A Strategy to increase the donor pool: use of cadaver lungs for transplantation. *Ann Thorac Surg* 1991; 52: 1113-1121.
- 13) Ulicny KS Jr, Eagan TM, Lambert CA, Reddick RL, Wilcox BR. Cadaver lung donors: effect of preharvest ventilation on graft function. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 1185-1191.
- 14) Belzer FO, Southard JH. Principles of solid organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45: 673-676.
- 15) Rehncrona S, Siesjo BO. Reversible ischemia of the brain: Biochemical factors influencing restitution. *Acta Physiol Scand* 1980; 492: 135-140.
- 16) 坂野 勉, 木下順弘, 上西正明, 阪本敏久, 杉本壽, 吉岡敏治, 杉本 侃. 脳死状態における全身性循環調節機序の検討. *自律神経* 1987; 24: 239-243.
- 17) 中野勝二. インターロイキン1. *医学のあゆみ* 1995; Vol 174. No 14: 1005-1008.
- 18) 辻 宏和, 松島綱治. IL-8とIL-8レセプター. *医学のあゆみ* 1995; Vol 174. No 14: 1040-1044.

ラット APOLT モデルにおいて  
移植肝が自己肝におよぼす影響

西尾和司・中島祥介  
金廣裕道・久永倫聖・中野博重

**Influence of Auxiliary Graft on Native Liver  
in Rat Auxiliary Partial Orthotopic Liver Transplantation Model**

Kazushi Nishio, Yoshiyuki Nakajima,  
Hiromichi Kanehiro, Michiyoshi Hisanaga, Hiroshige Nakano

*First Department of Surgery, Nara Medical University*

**【Summary】**

We developed a model of auxiliary partial orthotopic liver transplantation (APOLT) in the rat, and investigated influence of auxiliary graft (AG) on native liver (NL). The median lobe and left lateral lobe of the recipient's liver was resected, accounting for 70% of liver volume. The graft size was reduced by 70% hepatectomy of the donor's liver in situ, and the reversed graft was transplanted orthotopically. Anastomosis between the graft's suprahepatic vena cava and the recipient's hepatic vein was done by running suture. The cuff technique was performed for the anastomosis between the graft's portal vein and recipient's portal branch. The artery was not reconstructed. The tissue blood flow (TBF) of AG and NL was measured until 6 hours after transplantation. The blood samples and liver sections were collected, and analyzed for TNF- $\alpha$ , nitric oxide (NO), ALT, hyaluronic acid and PCNA labeling index (LI). There were no differences in the TBF between AG and NL at any time point ( $p=0.467$ ). However, the significant time-dependent changes of AG/NL ratio were observed ( $p=0.013$ ). AG/NL ratio of TBF at 1 hr and 2 hrs after reperfusion increased above 1.0 and decreased thereafter. The mean values of TNF- $\alpha$ , NO, ALT and hyaluronic acid were significantly higher in APOLT than controls of 70% hepatectomized rats at 6 hrs after hepatectomy. PCNA LI of controls were higher than that of NL ( $p=0.08$ ) and AG ( $p=0.03$ ). These findings suggest that native liver function may be deteriorated by the graft due to depriving blood flow and releasing cytokines in APOLT.

**Key words** : Orthotopic liver transplantation,  
Rat liver transplantation,  
Auxiliary liver transplantation,  
Interhepatic competition,  
Tissue blood flow

**I. はじめに**

