

II. PFC 乳剤の基礎

5. 体外循環・臓器保存

薄場 彰* 羽田一博* 岩谷文夫*
元木良一* 本多憲児*

1) はじめに

PFC乳剤を用いての体外循環および臓器保存について述べる。

2) 体外循環

PFC乳剤を perfusate とした体外循環の可能性について、仔ウシを用い検討したので、その成績を述べる。

(1) 研究目的 体外循環は Gibbon, J. H.¹⁾ (1953年) が開心術に使用、以来開心術には日常手段として用いられている。しかし、血液需要の増加に伴う血液供給の困難、大量輸血および人工心肺の副作用による出血傾向、血清肝炎、同種血輸血症候群^{6,7)}、postperfusion syndrome 等が問題になってきた。これらの合併症を防止する方法として1959年ころより血液希釈体外循環が開発され、これが体外循環の基本的な方法として現在用いられるようになった。一方、Cooly, D. A. ら²⁾ は血液希釈をさらに進め、同種血を全く使わない無血体外循環法を臨床に応用し好成績を収めた。

教室星野³⁾ は429例の体外循環例中236例 (55%) に無血体外循環を行い、そのうち術後も同種血輸血を全く行わなかったものは193例 (83%) で、無血体外循環により術後血清肝炎の発生率は低下し⁴⁾、microembolism は防止され⁵⁾、術後合併症は少なかったと報告した。さらに星野³⁾、浜田⁴⁾ は体外循環中の最低ヘマトクリット値は15% まで希釈しうると報告した。

しかしながら体重が少なく、循環血液量の少ない小児開心術にも無血体外循環を拡大せんとするとき、希釈率が高度となり、灌流血液の oxygen carrying capacity の低下、さらにこれを解決するために灌流量を増加させねばならないことによる血球破壊の可能性が想定された¹⁷⁾。ここに酸素運搬能を有する、いわゆる人工血液の必要性が痛感され、著者らは Fluosol-DA (FDA) を perfusate として応用しうるか否かを解決すべく本研究を行った。

(2) 実験方法 体重55~100kg のホルスタイン 牡仔ウシ8頭を用いた。前投薬として硫酸アトロピン1.0~1.5mg を静注、気管内挿管を行い、50% O₂ mixed air, fluothane 0.6~1.0% の濃度で麻酔を維持した。麻酔後ヘパリンナトリウム 3mg/kg を全身投与後、右総頸動脈に送血カニューレ、左外頸静脈に脱血カニューレを挿入した。人工心肺は泉工医科工業社製ダブルローラポンプおよび Harvey H/1500 型気泡型人工肺を使用した。充填液には20% FDA 4,000~7,000ml (平均5,800ml) に7% 重炭酸ナトリウム40ml/L, 20% Mannitol 3ml/L を添加して用い、60~120分間の体外循環を行った⁶⁻⁸⁾。

体外循環に先だって、脱血回路より自己血を急速脱血し、この間血圧を維持するように FDA よりなる充填液を動脈回路より送液した。循環血液量の70% を脱血したところで、体外循環を開始した。脱血量は3,600~6,000ml で、脱血に要した時間は4~11分であった。体外循環時間は5頭

* 福島県立医科大学第一外科

表 1. Fluosol-DA 20%を用いた体外循環実験

| No. | Calf | B. W. (kg) | Hemospasia | | ECC Time (min.) | Lowest Hct (%) | Fluosol-DA | | Surv. Days | Remarks |
|------|------|---------------|---------------|----------------|--------------------|-------------------|----------------|-------------------|------------|-----------|
| | | | volume (L) | Time (min.) | | | Priming (L) | In Body (g/kg) | | |
| 1 | C2 | 60 | 4.0 | 4 | 60 | 9 | 5.5 | 15.0 | 4 | hemolysis |
| 2 | C3 | 70 | 4.5 | 7 | 60 | 7 | 6.0 | 12.5 | 1 | hemolysis |
| 3 | C4 | 90 | 4.0 | 8 | 60 | 4 | 4.0 | 6.3 | 166* | |
| 4 | C5 | 100 | 5.0 | 7 | 60 | 9 | 6.0 | 9.1 | 161* | |
| 5 | C6 | 77 | 4.0 | 8 | 60 | 12 | 5.0 | 11.7 | 315* | |
| 6 | C7 | 97 | 6.0 | 11 | 120 | 5 | 7.0 | 11.5 | 395* | hemolysis |
| 7 | C8 | 55 | 3.6 | 8 | 120 | 4 | 5.5 | 12.7 | 174* | |
| 8 | C9 | 80 | 5.0 | 10 | 120 | 5 | 7.0 | 16.6 | 2 | hemolysis |
| Mean | | 78.6 | 4.5 | 7.9 | — | 6.9 | 5.8 | 11.9 | — | |

* Sacrifice

(C₁~C₅)では60分, 3頭(C₆~C₈)では120分であった。灌流液温は37℃とし, 灌流量は42.9~60.0 ml/kg/min, 人工肺への酸素流量は灌流量の3倍とした。体外循環終了後脱血した自己血を頸静脈より点滴にて還元しながら, protamin sulfate 4.5mg/kgを投与し, ヘパリンを中和した。

(3) 研究成績 研究成績を表1に示す。FDAをperfusateとした体外循環で問題となることは, (a) 体外循環を施行したウシの発育状況および予後, (b) 酸素運搬量と酸素消費量との関係, (c) 体外循環におけるperfusateとしてのFDA使用の適量, (d) 体外循環後のFDAの組織内貯留および排泄, などである。以下各項目について述べる。

(a) 体外循環施行仔ウシの予後 術後生存仔ウシ5頭の術後体重増加曲線を見ると, 1頭を除き正常ホルスタインの体重増加とほぼ類似した増加率で良好な発育を示した。体重増加が不良であった1頭はFAD体内取り込み量が12.7g/kgを生仔ウシ中もっとも多量にFDAを使用したウシであった(体内取り込み量については後述)。

(b) 体外循環中のFDA酸素運搬能 体外循環中のHct値は4~11%, Hb量は1.9~2.8g/dl, Fct値(fluorocrit: Hct値測定時のFDA沈澱量)は6.0~10.0%で, 血液は高度に希釈され, 希釈率は循環血液量の44~83%(平均68%)であった。しかし体外循環中のP_aO₂は400±64mmHgで高値を維持した。またP_vO₂は31~421mmHgとバラツキが多く, P_aCO₂は25.0±5.5mmHgで低値であった。Base excessは9.4±6.1mEq/Lで, 高度希

釈にもかかわらず代謝性アシドーシスはみられず, 組織へのoxygen deliveryは十分であったと考えられた。

体外循環中の灌流血液のFDA濃度を正確に計測しえたC₇, C₈, C₉の3頭についてoxygen deliveryとoxygen consumptionより37℃におけるoxygen demandを求めると, 3.0~3.5ml/kg/minで, このoxygen demandを満たす必要最低のoxygen deliveryは5.0ml/kg/minと推測された。

安達ら^{9,10)}の雑種成犬を用いた体外循環の実験ではイヌの37℃におけるoxygen demandは5ml/kg/min弱, 必要最低oxygen deliveryは8ml/kg/minであったとしたが, 著者らの仔ウシを用いた実験に比し安達らの成績はやや高値であった。これは安達らは小動物を用い, 著者らは大動物を用いたため, すなわち, 動物種による差と考えられた。

一方, このoxygen demandに対するoxygen deliveryはC₇は3.3~4.0, 平均3.6ml/kg/min, C₈は6.1~8.4, 平均7.1ml/kg/min, C₉は4.4~6.2, 平均5.3ml/kg/minと灌流状態が比較的不良であったC₇を除き, 必要最低oxygen deliveryをほぼ満足していた。Oxygen consumptionもC₇は0.77~2.46, 平均1.67ml/kg/min, C₈は3.10~5.72, 平均3.24ml/kg/min, C₉は3.00~3.49, 平均3.24ml/kg/min, やはりC₇を除きoxygen demandを満足させた(図1)。

かかる組織における酸素消費量のうちFDAが

Three source oxygen delivery and consumption

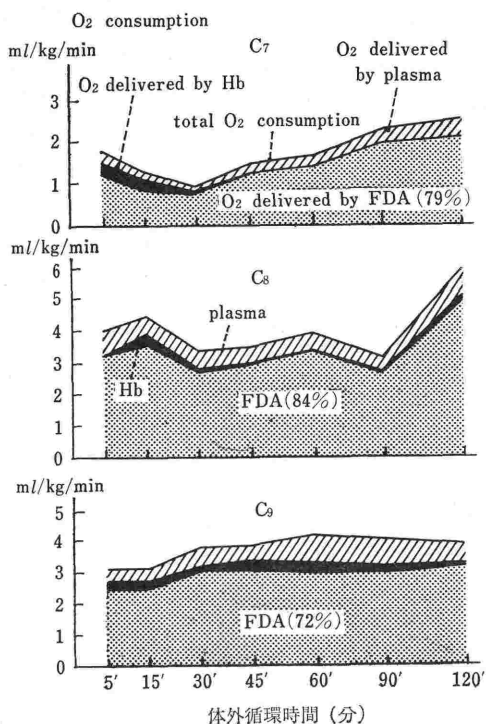


図 1. 酸素消費量の推移

組織に運搬した酸素量の比率はC₇で69~92%, C₈で80~86%, C₉で67~87%であった。すなわち, FDA は体外循環の充填液として酸素運搬の面から満足できるものであった。

(c) FDA の体内取り込み量と仔ウシの予後
Fluosol-DA 20%の LD₅₀ は静脈内投与ではマウスで 29.0g/kg, ラットで26.6g/kgである。交換輸血ではラットで28.7g/kgであり, FDA の LD₅₀ は理論的には 26.0~29.0g/kg であると考えてよいと思う。したがって仔ウシの実験でも26~29g/kg 以上の投与は問題である。体外循環時には充填液の約半量が体内を循環しているものと考えられる。このことより体外循環時の LD₅₀ の決定は体外循環中の FDA の量よりも, 体外循環終了時における体内取り込み量により左右されると考えられた。

体外循環終了時の FDA 取り込み量は人工心肺回路内残留液量および Fct 値を測定し, つぎの式より算出した⁶⁾。

$$\text{体内取り込み量(g)} = [\text{FDA使用量(ml)}$$

$$\times \frac{20}{100}] - [\text{回路内残留液量 (ml)} \times \frac{2\text{Fct}}{100}]$$

実際のFDA量はFct 値にて算出した値の約2倍であるので, 2倍の Fct 値を計算には用いた。

著者らの仔ウシ8頭の体内取り込み量は6.3~16.6, 平均11.9g/kgであった。各仔ウシについてみるにC₂, C₃, C₉の体内取り込み量はそれぞれ15.0, 12.5, 16.6g/kgであったが, いずれも溶血のため術後早期に失った。C₇(11.5g/kg)では術直後の溶血に対して術後3日目に2,000mlの輸血を行った。C₄, C₅, C₆, C₈の4頭では体内取り込み量が10g/kg以下であり溶血もみられず, 術後30%以上のHct 値を維持することができ, 輸血の必要はなかった。

C₄(6.3g/kg), C₅(9.1g/kg), C₆(11.7g/kg), C₇(11.5g/kg)の4頭は術後正常ホルスタインの体重増加曲線に一致した成績を示し, 術後166, 161, 315, 395日に犠牲死した。しかしC₈(12.7g/kg)は術後の体重は標準以下で術後174日に犠牲死した。

FDA に溶血作用があるという報告は現在までない。しかし, 溶血の起こったことは事実なので教室では正常人の血球を使用して *in vitro* で溶血テストを行った(表2)。正常ヒト血液を用い, FDA 20%液単独(A液), FDAにannex solutionを加えたもの(B液), FDAにハルトマン液を加えたもの(C液), FDAに0.9%NaCl液を加えたもの(D液)を作製, それぞれの液を血液に種々の濃度に混合した。混合液を室温(20°C), 20時間放置し, 滲透圧, 肉眼的溶血の有無を検討した。A液のみの群では全例溶血し, 滲透圧は血液のみの320mOsmよりも低値で313~288mOsmを示した。B液との混合群では, いずれも溶血は認められず, 滲透圧も365~430mOsmと高値であった。C液, D液でも全例に溶血がみられ, 滲透圧は308~285mOsmと血液の滲透圧よりも低値であった。すなわち, 種々の濃度の FDA 液を作製して溶血反応を調べたが, 以上の結果よりこれらの溶血は, FDA そのものの反応と考えるよりは滲透圧の低下によるものと判定された。

著者らの体外循環実験において FDA の体内取り込み量が 11.5g/kg 以上の仔ウシで溶血がみられ, また溶血は起こらなくとも体内取り込み量が

表 2. 溶血テスト成績

溶血テスト (正常ヒト血液, 室温20°C, 20時間放置)

A液: Fluosol-DA20%液単独 B液: FDA20% (4 ml)+Annex Solution (2 ml)
 C液: FDA20% (4 ml)+ハルトマン液(1 ml) D液: FDA20%(4 ml)+0.9%NaCl(1 ml)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| A 液 | 血液 4 (ml) | 血液4+A液1(ml) | 血液4+A液2(ml) | 血液4+A液3(ml) | 血液4+A液4(ml) |
| Fct (%) | 0 | 3 | 7 | 10.5 | 11.5 |
| 滲透圧 mOsm | 320 | 313 | 293 | 289 | 288 |
| 溶血 | (-) | (卅) | (卅) | (卅) | (卅) |
| B 液 | 血液 4 (ml) | 血液4+B液1(ml) | 血液4+B液2(ml) | 血液4+B液3(ml) | 血液4+B液4(ml) |
| Fct (%) | 0 | 1.5 | 3 | 4.5 | 5.0 |
| 滲透圧 mOsm | 321 | 365 | 392 | 429 | 430 |
| 溶血 | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| C 液 | 血液 4 (ml) | 血液4+C液1(ml) | 血液4+C液2(ml) | 血液4+C液3(ml) | 血液4+C液4(ml) |
| Fct (%) | 0 | 3 | 6 | 8 | 9 |
| 滲透圧 mOsm | 318 | 302 | 299 | 295 | 285 |
| 溶血 | (-) | (卅) | (卅) | (卅) | (卅) |
| D 液 | 血液 4 (ml) | 血液4+D液1(ml) | 血液4+D液2(ml) | 血液4+D液3(ml) | 血液4+D液4(ml) |
| Fct (%) | 0 | 3 | 5 | 6 | 7 |
| 滲透圧 mOsm | 345 | 305 | 308 | 297 | 285 |
| 溶血 | (-) | (卅) | (卅) | (卅) | (卅) |

12.7g/kgであったC₈のように成長の遅滞が生じたことは体外循環におけるFDA使用量の限界を示すものであり, FDA取り込み量が11.5g/kg以下の仔ウシではとくに問題を生じていないことから, 現在の時点では著者らは, 仔ウシにおいてはFDAが10.0g/kg以下であれば安全に体外循環を施行でき, また術後の成長に影響を及ぼさないと考えている。

(d) FDAの体組織内への貯留および排泄 静脈内に投与されたFDAは循環中に大部分は肺より排泄され, 一部は注入後2~3日経過すると網内系に取り込まれ血中より消失する。横山ら¹¹⁾はラットを使った実験により, 網内系に取り込まれたPFC乳剤は脂質内に溶解し, リンパ液や血液の流れに乗って肺に運ばれ, 呼気により肺胞から排泄されると報告した。彼らはさらにこの排泄速度はPFC乳剤の種類により大きく異なり, 現在利用できるPFC_nのなかでFDC(perfluorodecalin)がもっとも速く, その半減期は6.0~7.7日であり, 二番目はFTPA(perfluorotripropylamine)およびFBA(perfluorodibutylmethylamine)で半減期はそれぞれ64.7, 74.0日であり, もっとも排泄が遅いのはFC-43(perfluorotributylamine)で半減期は895.2日であると報告した。

FDAはFDCとFTPAの混合乳剤であり, 体内に投与した場合は当然FDCの方が速く排泄され,

FTPAは比較的遅く排泄されるはずである。横山らは体重150gのラットに50~100ml/kgのFDA乳剤を投与したところ, 6カ月後にはFDCは全く検出されなかったが, FTPAは肝臓で0.9±0.3mg/g tissue, 脾臓で0.2mg/g tissue, 骨髄で4.4±3.9mg/g tissueと極く微量ではあるが検出されたと報告した。

著者らは体外循環後生存しえた6頭について一定期間後に犠牲死させ, 各臓器内のFDA量(FDC量+FTPA量)をガスクロマトグラフィー法にて測定した。その成績を表3に示す。

術後2日に死亡したC₉では脾臓に54.20mg/g tissue(以下単位を略す), 肝臓に38.47, リンパ節に29.92と大量のFDAが検出され, しかもあらゆる臓器からFDAが検出された。術後161, 166日に犠牲死したC₅, C₄では脾臓6.70, 1.39, 肝臓1.69, 0.26, リンパ節1.63, 0.12と減少, 395日を経過したC₇では脾臓, 骨髄にのみわずかに検出されたにすぎなかった。術後体重増加不良でFDA体内取り込み量が12.7g/kgであったC₈は術後174日を経ても脾臓, 肝臓, 副腎にFDAが検出された。

肝臓の病理組織学的所見では, C₄において術後12, 40, 60日の肝生検像を比較すると, 肝細胞の変性は認められないが, いずれの標本にも風船状に腫大した泡沫細胞を認めた。しかし術後日数を

表 3. 体外循環後の FDA の臓器別蓄積

| Postope, days | 2 | 161 | 166 | 174 | 315 | 395 |
|------------------------|-------|------|------|-------|------|--------|
| Calf | C9 | C5 | C4 | C8 | C6 | C7 |
| FDA in the body (g/kg) | 16.6 | 9.1 | 6.3 | 12.7 | 11.7 | 11.5 |
| Spleen mg/gtissue | 54.20 | 6.70 | 1.39 | 14.90 | 0.25 | 0.24 |
| Liver | 38.47 | 1.69 | 0.26 | 2.90 | N.D. | N.D. |
| Lymph gland | 29.92 | 1.63 | 0.12 | 0.60 | N.D. | 0.0033 |
| Red bone marrow | 7.94 | 0.66 | 0.58 | 1.15 | 0.21 | 0.14 |
| Yellow bone marrow | 3.94 | 0.39 | 0.14 | 1.19 | N.D. | 0.65 |
| Lung | 1.32 | 0.25 | 0.15 | 1.00 | N.D. | N.D. |
| Kidney | 4.22 | N.D. | N.D. | 1.00 | N.D. | N.D. |
| Adrenal gland | 5.28 | N.D. | N.D. | 3.10 | N.D. | N.D. |
| Brain | 0.06 | N.D. | N.D. | 0.04 | N.D. | N.D. |
| Pancreas | 1.32 | N.D. | N.D. | 0.06 | N.D. | N.D. |
| Thymus | 1.39 | N.D. | N.D. | 0.44 | N.D. | N.D. |
| Stomach | 0.54 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Small intestine | 1.35 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Large intestine | 0.60 | N.D. | N.D. | 0.06 | N.D. | N.D. |
| Urinary bladder | 0.46 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| Testis | 1.00 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |

N.D. = Not Detected

経過するとともにこの泡沫細胞は減少する傾向にあり、術後 161 日の剖検時には泡沫細胞は全く認められなかった。

(4) むすび FDA を体外循環充填液とし、1 時間ないし 2 時間の体外循環実験を仔ウシ 8 頭に施行した。FDA 使用量は 4,000~7,000ml で、体外循環後の FDA 体内取り込み量は 6.3~16.6g/kg であった。8 頭中 FDA 体内取り込み量が 11.5g/kg 以上の 3 頭 (37.5%) を溶血のため失った。FDA 体内取り込み量が 11.5g/kg 以下の 5 頭は 6 カ月以上生存し、体内取り込み量が 12.7g/kg の 1 頭はホルスタインの標準体重増加に比しやや不良であったが、体内取り込み量が 10g/kg 以下の 4 頭は溶血もなく、体重増加も標準と同様であり、体外循環における FDA の perfusate としての使用量は体内取り込み量 10g/kg 以下とすべきである。

体外循環中の oxygen delivery と oxygen consumption に関しては、37℃ における oxygen demand は約 3.0~3.5ml/min であり、これだけの oxygen demand を満たす必要最低 oxygen delivery は 5.0ml/kg/min であった。組織の oxygen consumption において FDA が組織に運

搬した酸素量の比率は 67~92% であった。

体内に取り込まれた FDA の大部分は肺から排泄されたが、一部は網内系に取り込まれた。しかし 1 年後の各臓器内 FDA 残留量は極微量であった。

以上より FDA は体外循環中の酸素運搬体として有用であった。

3) 屍体内臓器灌流多臓器保存および摘出臓器灌流保存

臓器保存には屍体内にて臓器を灌流し、臓器を保存する屍体内臓器灌流多臓器保存 (以下多臓器保存法と略記) と、摘出せる臓器を保存する単離臓器保存の 2 法がある。

A. 屍体内臓器灌流多臓器保存法

(1) 多臓器保存法の目的 本邦における屍体腎移植成績は欧米に比して著しく不振である。その理由は「死」の定義が欧米と異なるところにある。すなわち、欧米では「脳死」が認められる場合が多く、heart beating cadaver よりの心臓、肝臓および腎臓の摘出が可能である。しかしながら本邦では「心停止」をもって「死」と判定する古典的の死の判定が法律により定められている。したが

って heart beating 下に臓器の摘出を行うことができないので、温阻血時間 (warm ischemic time, WIT) が長時間に及び臓器の viability が失われ、移植しても機能発現の可能性が少ない。本邦において屍体腎移植成績が欧米諸国に比し不良なることの原因はここに存在する。本問題を解決するために著者ら^{12,13)}は WIT 短縮を目的に心停止後屍体内で臓器を灌流保存し、多臓器の viability を心停止後数時間維持する方法を開発した。

(2) 乳酸加リンゲル液による灌流

(a) 研究方法 雑種成犬を用い、ネンプタール静脈内麻酔下に開腹、ヘパリンナトリウム 3 mg/kg 投与 5 分後に大動脈および下大静脈に福島医大式 double balloon 付きカニューレを挿入し、カニューレの先端を剣状突起の直下に位置せしめ、カニューレを教室考案の特殊小型人工心肺装置「福島医大式屍体内臓器灌流装置」に接続後、開胸して心臓を握り心停止させ 2~10℃ に冷却された乳酸加リンゲル液で急速に灌流冷却し、腎臓、肝臓、脾臓および腸管等の腹腔内諸臓器の屍体内保存を試みた(図 2)。

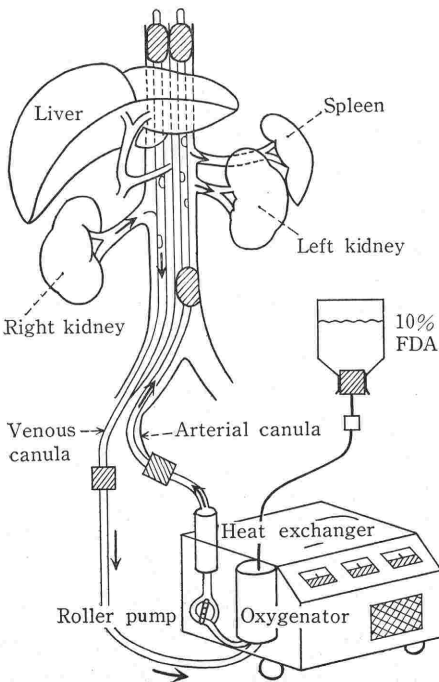


図 2. 屍体内臓器灌流法

(b) 研究成績 薄場¹⁴⁾は、雑種成犬30頭を用い

た乳酸加リンゲル液による灌流実験より、常温灌流より低温灌流がはるかに良好であり、しかも急速冷却灌流が灌流状態としてもっとも良好であり、さらに送液量は送液圧が100mmHg 以下で、血管抵抗が $15,000 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}/\text{m}^2$ 以下にコントロールされれば灌流臓器を損傷する危険は少ないと報告した。

(c) 臨床応用 この実験結果に基づいて著者らは本法を臨床に適用し、3 屍体より 6 腎を死後 1 時間12分~3 時間38分灌流保存後に摘出し、6 人の慢性腎不全患者に移植、全例に腎機能の発現をみた¹⁵⁾。

(3) FDA による灌流 教室ではさらに従来のように単に急速に冷却するだけでなく、酸素を組織に供給できれば腎臓ばかりでなく、anoxia に非常に弱いとされている肝臓、脾臓等の viability も保持でき、移植に供することが可能となるのではないかと考え、灌流液に酸素溶解能の高い Fluosol-DAを用いて実験を行った。

(a) 研究方法 方法は乳酸加リンゲル液による灌流と同様で、乳酸加リンゲル液で灌流臓器中の血液成分を wash out 後、灌流液に10% FDAを用いて 6 時間灌流した。灌流中 oxygenator への酸素流量は送液量の 9 倍とし、酸素流量の 1.5% に相当する炭酸ガスを添加した。

(b) 研究成績

i) 雑種成犬による基礎的研究 教室阿久沢¹⁶⁾は雑種成犬24頭を用いた実験で、灌流液としては乳酸加リンゲル液より FDA が有利であるとし、しかも CO₂ を添加して呼吸性アルカローシスを補正することが灌流保存を良好にすると報告した。

ii) Oxygen delivery と Oxygen consumption 本実験犬における灌流中 Hct 値は 1% 以下、Hb 量は 0.4g/dl 以下で血液成分はほとんど flush out されていた。Fct 値は 5~6% であった。本実験における oxygen delivery と oxygen consumption より 2~10℃ における oxygen demand を求めると 0.16ml/kg/min となり、この oxygen demand を満たす必要最低 oxygen delivery は 2.0ml/kg/min であると推測された。すなわち、2~10℃ の低温といえども 0.16ml/kg/min 程度の酸素を必要としていることが判明した。

この条件下における oxygen demand に対する

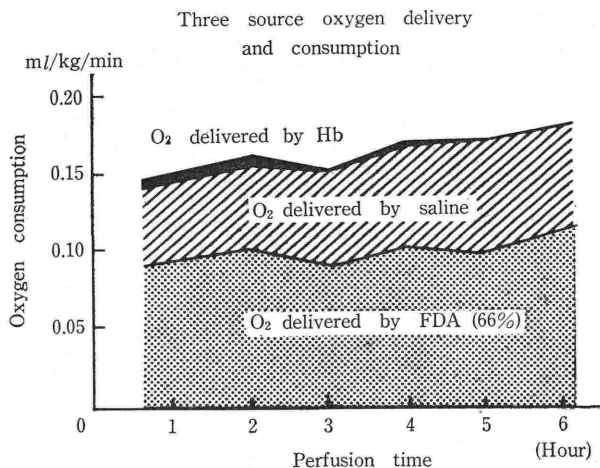


図 3. 酸素消費量の推移

oxygen delivery は 1.4~1.7ml/kg/min でほぼ需要を満足しており(図 3), そのうち66%をFDAが運搬していることになる. すなわち, 10%の濃度にすぎない FDA が全体の酸素の66%を運搬しているわけで, このことは FDA の酸素運搬能の優秀なことと組織への酸素供給のすぐれていることを示すものと思う.

iii) 温阻血時間の限界 臨床上心停止直後にカニューレを挿入し灌流を開始することは不可能な場合が少なくない. そこで著者らは心停止後何分までに灌流を開始すれば移植可能か, すなわち, WIT が何分まで許容されるかについて血管抵抗, 灌流 6 時間後の残存 FDA 濃度, および摘出臓器の組織学的所見より検討した.

心停止直後より灌流を開始したものを WIT 0 分群, 心停止 30 分, 60 分, 120 分後に灌流を開始したものを, それぞれ WIT 30 分, 60 分, 120 分群とし, それぞれ 3 頭ずつ計 12 頭について 6 時間灌流を行った.

血管抵抗は WIT 0 分では $3,300 \pm 300 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}/\text{m}^2$. WIT 30 分では $3,900 \pm 300 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}/\text{m}^2$, WIT 60 分では $3,150 \pm 150 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}/\text{m}^2$ と WIT 0 分から WIT 60 分までは有意の差が認められなかった. しかし, WIT 120 分では $4,600 \pm 1,300 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5}/\text{m}^2$ と上昇していた.

灌流諸臓器個々についての灌流状態を検討する指標のひとつとして灌流 6 時間後の各臓器別の

FDA 残留濃度があげられる. 灌流状態が不良であれば臓器はうっ血し, 著しい場合には破裂する. 仮に血液で灌流したとすれば組織像でうっ血の所見, すなわち赤血球が臓器内に大量にうっ滞するであろう. しかし, FDA 乳剤(いわゆる人工血液)で灌流する場合は, 事前に血液成分を wash out するので赤血球は一掃されており, たとうっ滞があってもうっ血像の所見はえられない. そこで FDA 濃度を灌流後臓器別に計測すれば灌流状態をある程度推測できると考えられた. しかし各臓器の血管床の占める割合は個々の臓器で異なり, 絶対数による表現は無理なので, WIT 0 分の FDA 濃度と, WIT 30 分, 60 分, 120 分それぞれの FDA 濃度の増減を百分率で求め比較した(図 4).

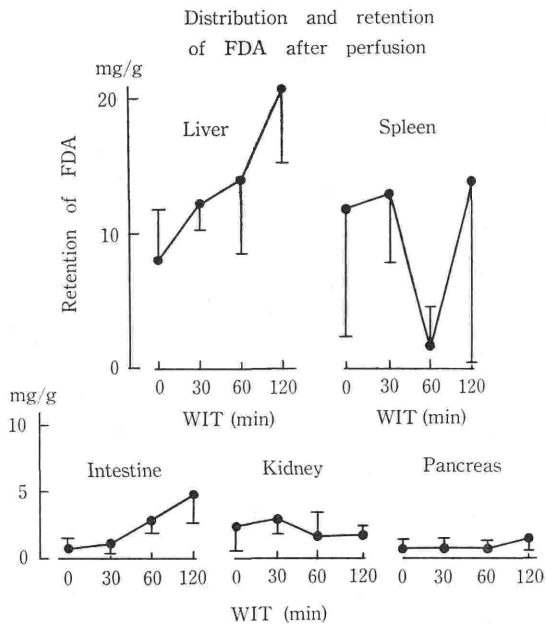


図 4. WIT と残留 FDA 濃度

腎臓では WIT 0, 30, 60, 120 分で FDA 濃度はそれぞれ 2.26 ± 1.55 , 2.28 ± 0.49 , 1.39 ± 1.82 , $1.28 \pm 0.15 \text{ mg/g}$ と有意差はなかった. すなわち WIT が延長してもうっ滞は起こらなかった.

脾臓では WIT 0, 30, 60 分ではそれぞれ 0.66 ± 0.45 , 0.45 ± 0.25 , $0.68 \pm 0.34 \text{ mg/g}$ であったが, WIT 120 分では $1.35 \pm 0.38 \text{ mg/g}$ と 104% 増加した. すなわち, WIT 120 分でうっ滞がみられた.

腸では WIT 0, 30, 60, 120 分ではそれぞれ

0.83±0.50, 1.28±0.54, 2.95±0.52, 4.56±1.96mg/g で WIT 0 分に比してそれぞれ54, 225, 449%増加していた。すなわち、腸ではWITが延長するにつれてうっ滞が増大していった。

肝臓ではそれぞれ 8.23±3.81, 12.41±2.01, 14.13±5.49, 21.73±5.52mg/g となり、WIT 0 分に比し50, 71, 164%増加していた。すなわち、肝臓でも WIT が延長するにつれてうっ滞が増大した。

脾臓ではそれぞれ12.02±9.01, 12.87±5.35, 2.06±2.75, 13.97±15.95mg/gとバラツキが多く脾臓そのものが均一に灌流されていないことが推測された。

以上より腎臓では WIT が延長しても FDA のうっ滞は起こらず、WIT 120分でも灌流状態は比較的良好であったと思われる。ところが脾臓では WIT 60分までは FDA のうっ滞がなかったが、WIT120分よりうっ滞がみられた。肝臓と腸管では WIT が延長するにつれてうっ滞が増加した。脾臓では残留 FDA 濃度は著しいバラツキを示し均一に灌流されていなかったと思われる。

そこで比較的 WIT の影響をうけなかった腎臓と、灌流そのものが不良であった脾臓を除外して脾臓と肝臓について WIT と組織所見を検討すると(表4)、肝臓では WIT 0分ではほぼ正常構造

表 4. WIT の肝・脾組織所見

| 灌流臓器 | WIT (min) | 組織所見 | | | |
|------|--------------|---------|----------|----------|----------|
| | | 0 | 30 | 60 | 120 |
| 肝 | うっ血 | 0(0/3) | 66(2/3) | 100(3/3) | 100(3/3) |
| | 空胞変性 | 0(0/3) | 100(3/3) | 100(3/3) | 100(3/3) |
| | Kupffer星細胞膨化 | 66(2/3) | 33(1/3) | 33(1/3) | 100(3/3) |
| | 肝細胞壊死 | 0(0/3) | 0(0/3) | 33(1/3) | 100(3/3) |
| 脾 | うっ血 | 0(0/3) | 0(0/3) | 0(0/3) | 0(0/3) |
| | 腺房細胞解離 | 0(0/3) | 0(0/3) | 100(3/3) | 100(3/3) |
| | 水泡変性 | 0(0/3) | 0(0/3) | 100(3/3) | 100(3/3) |
| | 自己融解 | 0(0/3) | 0(0/3) | 66(2/3) | 66(2/3) |

(%)

であったが、WIT 30分から肝細胞変性をはじめ、WIT 120分では著明なうっ血、肝細胞の空胞変性および壊死像がみられた。すなわち、FDA

残留濃度からみた肝臓の灌流状態と組織像の変化の程度はほぼ一致した。

脾臓では WIT 0分、30分ではほぼ正常構造であったが、内外分泌腺とも WIT 60分から細胞変性をはじめ、WIT 120分では腺房細胞の解離、ラ氏島の水疱変性および自己融解によるβ顆粒喪失等がみられた。脾臓でも灌流状態と組織像の変化の程度はほぼ一致した。

以上より残留 FDA 濃度からみた灌流状態と組織変性所見はよく一致し、多臓器移植の場合の WIT の限界は60分までと思われた。すなわち、donor の心停止後60分以内にカニューレを挿入し、10% FDA を用いて屍体内灌流を行えば少なくとも6時間までは各臓器は良好に保存され、移植に供することができると思われた。

(c) 臨床応用 著者らは FDA を用い屍体内臓器灌流を行い、腎移植に成功した¹⁷⁾。

単離臓器保存

単離臓器保存には肺、肝臓、脾臓、腎臓等の臓器が考えられるが、本稿においては灌流液として FC-43 を使用した単離腎の低温灌流保存の基礎的研究について述べる。なお、肝臓、脾臓、肺の単離灌流保存は現在実験途上なので別の機会に報告する。

(1) 研究方法 雑種成犬8頭を用い全麻下に右腎を摘出、摘出腎を wash out し、腎重量を計測後“Mox”100型腎保存装置にて2頭では24時間、4頭では48時間、更に2頭では72時間、低温灌流保存した。洗浄液および灌流液の組成を表5、6に示す。

表 5. 洗浄液の組成

| | |
|---------------------------------------|---------|
| Modified Collins' solution (ミドリ十字) | 1,000ml |
| Heparin | 5,000U |
| 2% Xylocaine | 5ml |
| Methylprednisolone | 250mg |
| Sodium cephalotin | 500mg |

灌流液の pH は7.4 (37℃) 前後になるように CO₂ を添加し、灌流液温は4~7℃、灌流圧は60 mmHgを超えないよう流量で調節した。灌流中経時的に灌流圧、灌流量、灌流温度をチェックし、同時に灌流液のガス分析、電解質、生化学および

表6. 灌流液の組成

| | (500ml 中) |
|----------------------------------|------------|
| Perfluorotributylamine (FC-43) | 10.00 w/v% |
| Pluronic F-68 | 1.28 w/v% |
| NaCl | 0.539 w/v% |
| KCl | 0.080 w/v% |
| MgSO ₄ | 0.040 w/v% |
| Na ₂ HPO ₄ | 0.0142w/v% |
| NaHCO ₃ | 0.0240w/v% |
| Glucose | 0.600 w/v% |
| Human serum albumin | 5.00 w/v% |
| Methylprednisolone | 250 mg |
| Regular insulin | 80 U |
| Sodiumbicarbonate | 13 ml |
| Sodium cephalotin | 500 mg |

酵素学的検査を行った。

灌流保存後腎重量を計測し、洗浄液にて灌流液を洗浄後左大腿部の大腿動静脈に端端吻合にて自家腎移植し、尿管皮膚瘻を形成後対側腎を摘出した。術後連日移植犬より採血採尿し、それぞれの電解質、生化学的検査を行った。

(2) 研究成績 24時間保存では2頭、48時間保存では4頭中2頭、72時間保存では2頭中1頭に移植直後より尿分泌を認めたが、48時間保存の他の2頭では静脈吻合の狭窄のため腎機能の発現がみられなかった。

(a) 灌流中のpH, PO₂, PCO₂の変化 灌流液のpHは7.3~7.5にコントロールでき、PO₂も250mmHg以上を維持でき、PCO₂は30~40mmHgのあいだであった。

(b) 灌流圧と灌流量の変化 24時間、48時間においては灌流圧の上昇は認められなかったが、72時間保存において48時間以後に灌流圧の上昇がみられた。灌流量は0.5~1.6ml/g/minで、1.0ml/g/min以上のイヌでは尿分泌が良好であった。

(c) 腎重量の変化 灌流前後における腎重量の変化をみると24時保存では11, 24%, 48時間保存では13, 14, 18, 19%, 72時間では15, 16%の増加にとどまり、灌流時間と重量の増加のあいだにも一定の傾向はみなかった。

(d) 灌流液の電解質, 酵素の変化 灌流中電解質には著変をみなかった。GOTは24時間では10以下、48時間では20以下、72時間では40以下であり、GPTも同様であった。LDHは24時間で140前

後、48時間で250前後、72時間では350前後であり、灌流時間とともに増加しており、72時間保存で尿分泌をみなかったイヌでは1,300と高値であった。

(3) まとめ PFC乳剤のperfusateとしての利点は、(a) 酸素運搬能を有していること、(b) aggregatable substancesを含有しないこと、および(c) perfusate作製が簡便であること、があげられる。Nakayaら¹⁸⁾は室温における腎灌流で、PFC乳剤は腎細胞活性および腎機能を維持するために必要で十分な酸素を運搬することが可能であるとしているが、低温灌流保存時における腎代謝の解明が不十分な現在ではPFC乳剤の酸素運搬の効能については今後検討を要すると考える。

尾崎¹⁹⁾は48時間灌流で灌流圧の上昇のために灌流量が9~49%減少したと報告しているが、著者らの48時間灌流では灌流圧の上昇はほとんど認められず、灌流量の減少も軽微であった。また腎重量の増加も尾崎らの72時間保存時の20~30%の増加に比し、著者らでは15%前後であった。これらのことからPFC乳剤を灌流液とした場合には、CPP等の血しょう製剤を灌流液とした場合にみられるaggregatable substancesによる微小血管の閉塞や、endothelial cellのswellingおよびdamageが軽度であったものと推測された。

以上のことから単離臓器灌流保存用の灌流液としてのPFC乳剤の有用性が示唆されるものと考えられた。

文 献

- 1) Gibbon, J. H. Jr.: Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minnesota Med.* 37:171~180, 1954.
- 2) Cooley, D. A. C., Beall, A. and Grondin, P.: Open-heart operations with disposable oxygenators, 5 percent dextrose and normothermia. *Surgery* 52: 713~719, 1962.
- 3) 星野俊一: 無血体外循環の適応と安全限界について. *日胸外会誌* 28:588~591, 1980.
- 4) 浜田修三: 無血体外循環に関する研究: 適応と稀釈率の限界について. *福島医誌* 28:41~52, 1978.
- 5) 板橋邦宏: 無血体外循環に関する研究: とくに無血および充填血体外循環時血液フィルターの走査電顕像について. *人工臓器* 7:580~586, 1978.
- 6) 岩谷文夫, 星野俊一, 板橋邦宏, 猪狩次雄, 井上仁, 薄場 彰, 阿部俊文, 高野光太郎, 安藤正樹, 菅野 恵, 滝波 真, 元木良一, 本多憲児, 飯 武勝,

- 長谷川鬼子男, 吉根 浩太郎, 須田 敏: 人工血液 (Fluosol®-DA 20%) による体外循環の実験的研究——長期生存実験——. 人工臓器 9:971~974, 1980.
- 7) 岩谷文夫, 星野俊一, 薄場 彰, 井上 仁, 浜田修三, 板橋邦宏, 安藤正樹, 芳賀志郎, 神岡斗志夫, 萩原賢一, 元木良一, 本多憲児, 佐藤 博, 飯 武勝, 遠藤昌邦, 吉根浩太郎: 人工血液の酸素運搬能, 循環系に及ぼす影響について——特に仔牛を用いた体外循環実験——. 人工臓器 9:172~175, 1980.
- 8) 菅野 恵: Fluosol-DA (FDA) による長時間 (120分) 体外循環に関する研究. 人工臓器 (投稿中).
- 9) 安達盛次, 川島康生, 森 透, 橋本聡一, 高野久輝, 広瀬 一, 大山朝賢, 横田博雅, 中田精三, 浜路政靖, 村田弘隆, 奥田彰洋, 金 勢華, 藤田 毅, 曲直部寿夫: 人工血液の体外循環への応用. 人工臓器 7:422~425, 1978.
- 10) Adachi, S., Mori, T., Kitamura, S., Miyamoto, K., Murata, H., Okuda, H. and Kawashima, Y.: Cardiopulmonary bypass primed with 35 w/v% PFC emulsion after removal of 75% autologous blood. *Proc. IVth Intern. Symposium on Perfluorochemical Blood Substitute, Kyoto*, 1978.
- 11) Yokoyama, K., Yamanouchi, K. and Murashima, R.: Excretion of perfluorochemicals after intravenous injection of their emulsion. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 23: 1368~1373, 1975.
- 12) 本多憲児, 薄場彰, 元木良一, 星野俊一: 半一屍体腎移植に関する研究. 外科治療 38:296, 1978.
- 13) 薄場 彰, 井上 仁, 伊藤俊一郎, 菅野 恵, 星野俊一, 元木良一, 本多憲児: 屍体内腹腔臓器冷却灌流保存法. 人工臓器 7:752~755, 1978.
- 14) 薄場 彰: 屍体腎移植時の 屍体内臓器灌流至適流量に関する研究. 移植 15:181~189, 1980.
- 15) 本多憲児, 薄場 彰, 井上 仁, 元木良一, 星野俊一, 千葉 惇, 坪井正碩, 庄司光男, 浜田修三, 芳賀甚市, 北村政敏, 森藤隆隆, 猪狩次雄, 鈴木湧焄, 猪狩徳一, 高野光太郎, 大井川 健, 菅野 恵, 小関雅之, 永峯 堯, 羽田一博, 原田 実, 本宮憲治, 奥山 孝, 本多徳児, 志賀龍馬: 屍体内灌流腎 (福島医大式) 移植 6 症例について——死後 1 時間 12 分~3 時間 38 分経過後摘出腎腎移植 6 成功例——. 日外会誌 79:1417~1425, 1978.
- 16) 阿久沢和夫: 所謂人工血液 (Fluosol-DA) を灌流液とする 屍体内臓器灌流の基礎的研究. 日外会誌 82:12~21, 1981.
- 17) Honda, K., Motoki, R., Hoshino, S., Inoue, H., Usuba, A., Hamada, O., Iwaya, F. and Ando, M.: Use of perfluorochemical artificial blood (Fluosol-DA) for perfusion of cadaveric Kidneys for transplantation. *Current Therapeutic Research* 28:309~318, 1980.
- 18) Nakaya, S., Sekita, M., Ohyanagi, H., Takeno, M., Okumura, S., Shirakawa, M., Okamoto, M., Yamamoto, M. and Mitsuno, T.: Kidney preservation with perfusion of perfluorochemical emulsions at room temperature. *Proc. Xth Intern. Cong. Nutrition-Symposium on PFC Artificial Blood, Kyoto*, 1975, p. 187~202.
- 19) 尾崎 梓: 試作灌流装置による 72~96 時間イヌ腎保存. 移植 12:112~117, 1976.

FUNDAMENTAL STUDIES ON THE APPLICATION OF PERFLUORO-CHEMICAL EMULSION

Akira Usuba, Kazuhiro Haneda, Fumio Iwaya, Ryoichi Motoki, and Kenji Honda
The First Department of Surgery, Fukushima Medical School

We reported the fundamental studies on the application of perfluorochemical emulsion (FDA) for extracorporeal circulation and organ preservation.

1. EXTRACORPOREAL CIRCULATION: Fluosol-DA was used for priming solution in extracorporeal circulation (ECC) in 8 calves. ECC was started after removal of 44-83% of autologous blood. During ECC, the Hct ranged from 4 to 12% and FDA proved to be

able to deliver 76-84% of the oxygen consumed by tissues. The distribution of FDA in various organs was measured after ECC. In the calf, which was sacrificed 395 days after ECC, only a trace level of FDA was demonstrated in the reticuloendothelial system.

2. ORGAN PRESERVATION: FDA was used as perfusate for organ preservation in two ways,

(1) One is in situ perfusion of abdominal

multiple organs for transplantation, in which when the perfusion started at least 30 to 60 minutes after cardiac arrest, the organs could be preserved in a good condition for 6 hours. This method was successfully applied to

humans.

(2) The other one is perfusion of removed kidney. We observed that FDA perfusate preserves the kidney for 72 hours.

Key words: Fluosol-DA, extracorporeal circulation, organ preservation, organ transplantation.