

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791317

研究課題名（和文） Cell Alive System (CAS) を併用した心臓移植術の基礎的研究

研究課題名（英文） Cell Alive system indicated preferable result about preserving the heart for transplantation

研究代表者

山口 聖次郎 (YAMAGUCHI SYOJIRO)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：30436810

研究成果の概要（和文）：基礎実験としてブタの心臓を用いて、最適温度（非氷結化、最低温度）の設定の確認をおこなった、電磁場冷却保存装置（CAS）を使った場合－5 度が最適であった。CAS 使用下－5℃冷却保存群（A 群）、CAS 非使用 4℃通常冷却保存群（B 群）の 2 群に分け実験を行うこととした。同法で、ラット心臓を用いた保存実験を行った結果、心機能、心筋浮腫、残存 ATP など CAS 群が良好であった。

研究成果の概要（英文）：As basic study, we searched the optimal degree of preserving the heart with the cell alive system(CAS). We found -5 Celsius was optimal degree. After that we researched the effects of CAS by using a Langendorff apparatus with rodents heart. With CAS group indicated superior result compared to control group in the ventricle function, myocardial edema, reserved ATP.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2009 年度 | 2,300,000 | 690,000 | 2,990,000 |
| 2010 年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,100,000 | 930,000 | 4,030,000 |

研究分野：心筋保護

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：心移植，零度以下，長期心臓保存，微弱電磁場冷却装置

1. 研究開始当初の背景

移植臓器の提供の観点から、先進国内において未だ臓器の不足が指摘される本邦の実情に基づいた研究。電磁場冷却保存装置

(CAS) は、生鮮食品などの保存機器として使用されている機器である。特徴は、素材の水分子を振動させながら、水分の氷結晶化を抑え、過冷却状態を維持するものである。より低温で臓器を保存することにより、保存時

間の延長が見込まれる。

2. 研究の目的

電磁場冷却保存装置 (CAS) を用い、零度以下 (Sub-ZERO) の超低温下で心臓を現状の保存時間よりも長時間保存し、その有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

動物実験に関しては、倫理委員会からの受諾の後、ガイドラインに基づき実施をおこなった

(1) CAS を用いた、心臓保存における、最適温度の発見とその安全性を基礎実験として確認。Sub-ZERO 環境で心筋が氷結晶化しないかに関して、設定温度を変えて、実際に保存を行い、顕微鏡を用い、組織水が氷結晶化しない温度を検証する。臓器保護としては、極力低温が望ましいと考えられる。

(2) 最適温度の設定を基礎実験で導き出した後、実際に CAS を使った Sub-ZERO 保存群と従来保存法を行った群の 2 群間比較検定をおこない。実際の心臓の保存状態を、心機能、心筋組織、生化学所見などで比較する。

心機能評価に関しては、心筋保護実験の領域で、広く認められているランゲンドルフ回路を用いて行った。測定は、再環流を開始し、心臓の拍動再開後、30 分、60 分、90 分後とした。測定終了後、組織の一部は、冷凍窒素を使用し瞬間冷凍を行い、ATP 測定をおこなった。

また一部の組織で、新鮮状態で心筋浮腫の測定をおこなった。

心臓保存は、臨床に基づき、全身麻酔、気管挿管、人工呼吸器使用下に、心臓を露出し、Wisconsin 液を用いて、心臓停止の後、ただ

ちに心臓を摘出、氷水内に、ナイロンバッグにいた心臓を入れ、すぐに保存機器へと搬送した。24 時間経過後に、心臓をランゲンドルフ回路に接続し、心機能の測定をおこなった。

統計解析は、SPSS を使い、Mann-Whitney U 検定を行った。

4. 研究成果

(1) 最適温度実験：

ブタの心臓を用いておこなった。電磁場冷却保存装置 (CAS) を使わない、通常冷凍庫を用いた保存においては、 -5°C 保存を行うと心臓は凍結してしまった。一方、CAS を使い、同様に -5°C 保存をおこなっても、全ての心臓が、凍結することなく保存できることを確認した。その後 -5°C 以下の温度設定で CAS を使用して同実験を繰り返した結果、CAS を使っても、心臓が凍結してしまうサンプルが確認された。この結果から SubZero (0 度以下) の環境で、心筋組織水が氷結晶化しないで、心臓が保存できる最低温度は、CAS を使用した -5°C の環境であることが確認された。

(2) 基礎実験の結果を踏まえ、CAS 使用下 -5°C 冷却保存群 (A 群)、CAS 非使用 4°C 通常冷却保存群 (B 群) の 2 群間比較実験をラット心臓を用いて実施した。

評価項目は、心機能 (dp/dt)、心筋浮腫 (wet-dry ratio)、冠動脈血流量 (coronary flow)、心拍数、心筋残存 ATP などとした。心機能評価は、保存後にランゲンドルフ回路を使用して行い、その後、組織サンプルを採取して、ATP 測定、心筋浮腫 (Wet-dry ratio) などをおこなった。その結果、coronary flow (図 1)、wet-dry ratio (図 2)、maximum dp/dt (図 3)、minimum dp/dt (図 4)、心拍

数 (図5) 組織中の ATP(図6)において CAS 群が通常保存法と比較し良好であることが判明した。

心機能 (動的評価), 残存 ATP (心筋の残存エネルギー), 心筋浮腫 (心筋の構造維持) の観点から, いずれも CAS を使用した Sub-ZERO 保存が優れており, 臓器の長期保存を目的とした本実験は成果があったと考えられた。

図1 Coronary flow

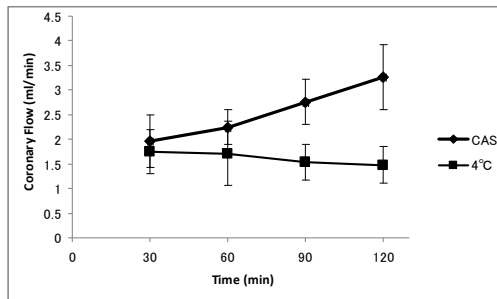


図2 Wet-dry ratio

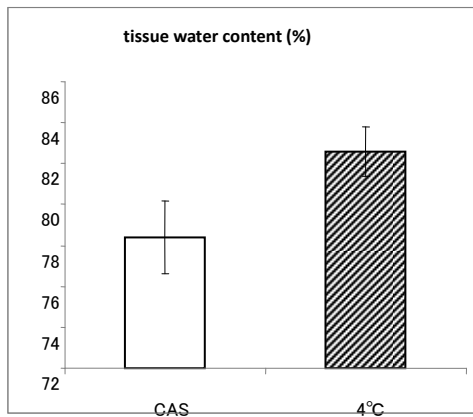


図3 maximum dp/dt

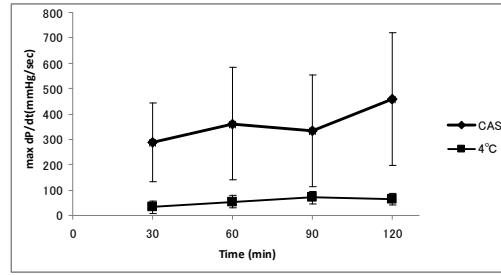


図4 minimum dp/dt

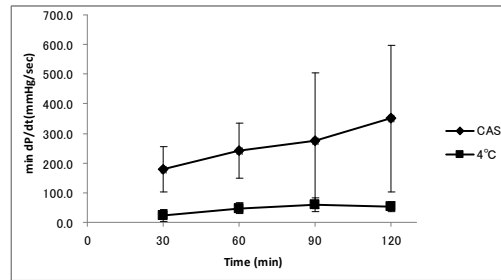


図5 心拍数

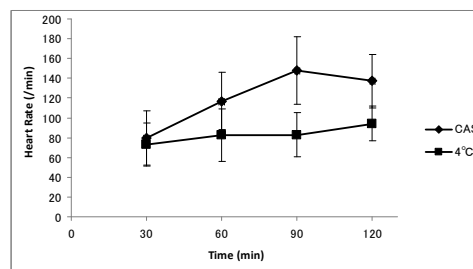
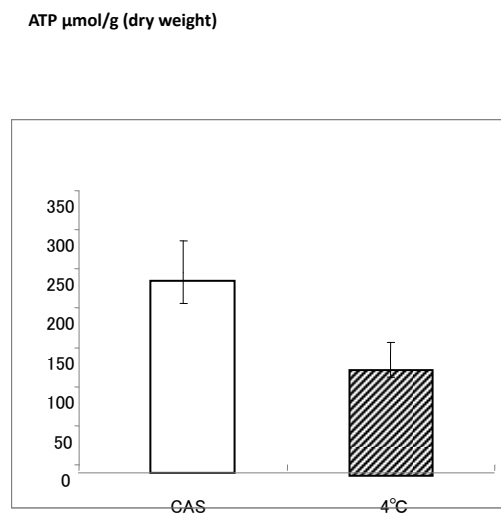


図6 残存 ATP



5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 聖次郎 (YAMAGUCHI SHOJIRO)

金沢大学 医学系 協力研究員

研究者番号 : 30436810

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし