

代謝抑制剤による臓器保存の研究—高圧酸素法併用による犬虚血心の保存延長効果—

札幌医科大学胸部外科学教室 藤堂 景茂、中江 純夫、狩野一臣、長尾 恒
守喰 弘、池田 晃治、岩 喬、和田 寿郎

高圧酸素法が低温法による臓器保存効果を延長し、冠灌流を行うことなしに4°C、3気圧で24時間の心Viability保存が可能であるという報告は1964年Manaxらによりなされ、以来高圧酸素法は臓器保存における重要な補助手段の一つとして注目され、低温法、灌流法などと併用され研究されてきている。一方われわれは硫酸マグネシウムが臓器の代謝を抑制し、臓器保存時間を延長することに注目し、1966年以来常温下、低温下に心Viability保存延長効果につき種々検索を重ね報告してきた。今回は一連の実験として低温・硫酸マグネシウム併用法に高圧酸素法を加え、その犬虚血心保存延長効果に検討したので報告する。

1. 臓器保存用携帯型高圧酸素タンクの作成：まずわれわれは長時間の心Viability保存を目的として、臓器保存用小型高圧酸素タンクの作成を行った。このタンクの概要は以下の如くである。

使用目的：臓器保存並びに高圧酸素研究実験用携帯型。 使用圧力：試験耐圧10kg/cm²、常用圧力5kg/cm²。 材質：缶体、8mm厚、鋼製、丸棒引出無溶接減圧筒型、ステンレス鍍金、蓋、天上げボルト締め式。 構成：寸法、内径196mm×深さ196mm、全巾280mm×全高435mm、重量、本体22.6kg、付属品10kg、圧力計、温度計、酸素出入口ストップバルブ、本体冷却用外風、計器類保護用外風、各1コ。保存臓器収納用ステンレス内缶2コ。この高圧酸素タンクは本型で通常の冷蔵庫に收容可能であり、発泡スチロール製冷蔵庫に入れて携帯可能である。

2. 実験方法：Donorとして雑種犬を用い、サイオキタル・ナトリウム静脈麻酔下気管内挿管し、呼吸器による補助呼吸のもとでオチ肋間部位で横切開による両側開胸を行い、全例に10mg/kgの大量バリン静脈内投与を行った。次いで上・下大静脈、奇静脈結紮後、右心房よりあらかじめ4°Cに冷却した2%硫酸マグネシウム、2.5%ブドウ糖、5%低分子デキストラン混合液で肺及び冠灌流を行い、心拍停止後心を摘出し十分に心血管床内の血液を洗い流した後、われわれの高圧酸素タンクを用いて2~4°C、絶対3気圧下で混合液に浸漬保存した。コントロール群としては4°C低温で保存した硫酸マグネシウム使用群を用いた。

3. 保存効果の判定：Marcus法を用いて保存心をRecipient犬の左頸部に移植、4時間以上の心機能維持をみた例のみを成功例とした。またTetrazolium Violet (2,5-Diphenyl-3- α -Naphthyl Monotetrazolium Chloride)を用い経時的にFormazan形成による心筋組織片の着色を認めるまでの時間(End point=秒)を測定した。

4. 実験結果：Marcus法による保存効果の判定では硫酸マグネシウム使用、4°C低温保存群に於ては7~8時間保存での10例中8例が機能再開7例に機能の維持を認めたと、12時間保存群では強い心細動のみで洞調律の維持は困難であり、さらに

24時間保存群では心細動が認められず、この群のViability保存限界時間は8時間前後と考えられる。これに対し4°C3気圧併用保存群では12および18時間保存群全例に心拍再開維持をみ、24時間保存群では7例全例に心拍再開、内6例に機能の維持を、また32~36時間保存群では5例中4例

Function of the Transplanted Dog Hearts after Preservation by MgSO₄ at 4°C

Preservation Group	No. of Dogs	Anoxic Time (Hrs.)	Function		Spontaneous Defibrillation	Function & W.L. > 4 hrs.
			W.L.	C.W.L.		
MgSO ₄	10	7-8	8	7	4	7
	4	12	0	0	0	0
	3	24	0	0	0	0

Function of the Transplanted Dog Hearts after Preservation by MgSO₄ at 4°C & 3 ATM.

Preservation Group	No. of Dogs	Anoxic Time (Hrs.)	Function		Spontaneous Defibrillation	Function & W.L. > 4 hrs.
			W.L.	C.W.L.		
MgSO ₄	2	12	2	2	1	2
	2	18	2	2	0	2
	7	22-26	7	6	2	6
	5	32-36	4	3	0	3
	4	48	2	0	0	0

W.L.: Workload

に心拍動再開、3例に維持をみた。48時間保存群では4例中2例に拍動再開をみたのみで機能の維持できたものは現在までのところない。一方Tetrazolium Violet試験では、4℃硫酸マグネシウム使用群が9時間保存でEnd point 69秒であるのに対し、高圧酸素併用群では48時間保存でのEnd point が65秒となっている。このTetrazolium Violet試験はヘパリン単独投与群が常温下60分保存でEnd point 67秒、硫酸マグネシウム単独投与群では常温下2~3時間保存群でEnd point が50~90秒となっており、各々の心拍再開、機能維持率は前者が100%、後者が91.3%であることから、Tetrazolium VioletにおけるEnd point 67秒前後がViable限界と考えられる。従って低温・硫酸マグネシウム使用群では9時間、高圧酸素併用群では48時間までの心Viability保存が期待できると考えている。

5. 組織学的検討：組織学的にみても低温・硫酸マグネシウム使用群は高圧酸素併用群に比べ明らかに心筋の変性は進んでいた。(24時間保存例の比較)

6. 考察：臓器保存に興味があるのは最も初期の時代から、保存する組織や臓器を低温環境下におくことが保存時間を延長するのにもつめて有効であることが指摘され、かつ日常経験するところである。Vant Hoffの法則によれば温度が10℃低下する毎に組織の酵素代謝活性は1/2に減少するといわれている。一方代謝抑制剤は物質代謝を遅延し、それに伴い酵素必要量を減少させ、その他酵素の減少を防止し、細胞膜及びlysosomeの統一性を保持し、かつ酵素による細胞破壊及び最終代謝産物の蓄積による細胞の自家崩壊を防止するものと考えられ、Webbらはマグネシウム投与による心筋のTissue homogenateにて酸素消費量、糖消費量の遅延をみている。われわれは硫酸マグネシウムを用いて常温下及び4℃低温下におけるストおよび犬虚血心Viability保存延長効果を認めすべく報告した。高圧酸素法を低温法と併用することが臓器保存に極めて有効であることは1964年Manaxらにより最初に報告されたが、その理由として彼らは高圧酸素は低温により低下した細胞レベルでの酸素需要に対し、表面より圧力より酸素を浸透させ細胞に補給することと、同時に高圧酸素が細胞の酵素活性を低下させ酸素消費量を抑制する効果とを述べている。さらに彼らは窒素ガスを用いて2~4℃4気圧で24時間腎及び心臓保存を行い、良好な保存効果を得ており、高圧酸素の保存効果は酸素より圧力が重要な役割をめていると推定している。一方Jacobsらの実験より4℃3気圧における酸素の心筋表面よりの浸透力は約0.92cmと考えられることから、高圧酸素の酸素補給効果を疑う者もあるが、Manaxらは24時間以上の保存では酸素を用いた方が窒素を用いた群より良い保存効果を得るところから、表面より浸透したO₂も保存中の臓器の代謝に何らかの形で関与しているであろうとしている。われわれはこの高圧酸素法をこねて行ってきた硫酸マグネシウム4℃低温保存法に併用し犬虚血心Viability保存延長効果を検討した。その結果低温硫酸マグネシウム使用群では8時間保存可能と考えられた犬虚血心が高圧酸素併用群では36時間まで延長され高圧酸素を使用することによる相乗的な作用は明らかであり、さらに保存時間の延長の可能性も残されている。この方法は臓器保存法のの一つとして行われている高圧酸素・低温・灌流の3者併用法と比べて遜色のないものと考えているが、特にわれわれの方法は保存操作が簡単であること、温度のコントロールが容易であること、灌流液の交換などの不必要なこと、硬塞発生の恐れが少いこと、かつコンパクトで臓器保存を行えるが容易に移動、輸送が可能であることなどの利点を有し、今後さらに種々の面より検討を加え、臓器保存時間の延長をはかりたいと考えている。

参考文献：中江純夫、藤堂景茂他：移植 6：166 1971

藤堂景茂、中江純夫他：日胸外会誌 19：759 1971

藤堂景茂、中江純夫：日本移植学会雑誌 7：89 1971