

博士論文

Perioperative and anesthetic management of cadaveric liver
transplantation

(脳死肝移植の麻酔および周術期管理に関する研究)

深澤 恭太

目次

略語

出版

第1章 本研究の目的	(7 頁)
第2章 序論	(10 頁)
2－1. 肝移植手術及び麻酔法概論	
2－2. 肝臓移植片の虚血再灌流—移植コンチナムの概念	
第3章 脳死肝移植における移植片サイズ不均衡が与える術後合併症 発生率への影響と加法モデルを用いた移植片サイズの許容範 囲の同定	(20 頁)
3－1. 序論	
3－2. 方法	
3－3. 結果	
3－4. 考察	
第4章 脳死肝移植における再灌流後症候群への寄与因子の同定及 び移植片因子の循環動態回復に与える影響の解析	(30 頁)
4－1. 序論	
4－2. 方法	
4－3. 結果	
4－4. 考察	

第5章 脳死肝移植における再灌流前の移植片のフラッシュ技法の違いによる術後合併症への影響 (40 頁)

5-1. 序論

5-2. 方法

5-3. 結果

5-4. 考察

第6章 総括と展望 (52 頁)

第7章 謝辞 (54 頁)

第8章 引用文献 (55 頁)

略語

ANOVA: analysis of variance

ATP: adenosine triphosphate

BSA: body surface area

BSAi: body surface area index

CB: crystalloid flush with backward unclamping

CI: confidence interval

CVP: central venous pressure

DRI: donor risk index

GWBWR: graft weight to body weight ratio

HAR: hepatic artery reperfusion

HBV: hepatitis B virus

HCV: hepatitis C virus

HCC: hepatocellular carcinoma

HX: hypoxanthine

ICU: intensive care unit

ITBL: ischemic type biliary lesion

LFS: large-for-size

MAP: mean arterial pressure

MELD: models for end stage liver disease

NFS: normal-for-size

NO: nitric oxide

OPTN: Organ Procurement and Transplantation Network

PB: portal blood flush with forward unclamping

PBC: primary biliary cirrhosis

PNF: primary non-function of graft

PRS: post-reperfusion syndrome

PSC: primary sclerosing cholangitis

PT: prothrombin time

PVR: portal vein reperfusion

S.E.M.: standard error of the mean

SFS: small-for-size

SLV: standard liver volume

STAR: Standard Transplant Analysis and Research

UNOS: United Network for Organ Sharing

UW: University of Wisconsin

WIT: warm ischemia time

XO: xanthine oxidase

用語集

1. **Donor risk index** (DRI、ドナー危険指数)

移植コンチナムの各段階における移植片に障害を与えると考えられる様々な因子の有無から計算される、移植片予後(生存期間)への影響を表す指数。2006年の、移植片生存期間に与える移植片の特徴を分析した、Fengらの研究を基に作られ、ドナーの質を評価する際に用いられる。[1] 数値が大きいほど、生存期間が短くなる傾向にあると解釈される。

DRIは以下の計算式に基づいて算出した。

$$\text{DRI} = \text{EXP} ((0.154 \text{ if } 40 \leq \text{donor age} < 50, 0.274 \text{ if } 50 \leq \text{donor age} < 60, 0.424 \text{ if } 60 \leq \text{donor age} < 70, 0.501 \text{ if } 70 \leq \text{donor age}) + (0.079 \text{ if cause of death is anoxia}) + (0.145 \text{ if cause of death is cerebro-vascular accident}) + (0.184 \text{ if cause of death is other}) + (0.176 \text{ if race is African American}) + (0.126 \text{ if race is other}) + (0.411 \text{ if donor after cardiac death}) + (0.422 \text{ if partial or split donor}) + (0.066 \times (170 - \text{height}) \div 10) + (0.105 \text{ if regional share}) + (0.244 \text{ if national share}) + 0.010 \times \text{cold ischemia time})$$

2. **Primary graft non-function** (原発性移植片無機能)

移植直後からの移植片の機能不全により術後 7 日以内に被移植者死亡もしくは、再移植となった症例で、他に特定可能な移植片機能不全の原因(肝門脈や動脈などの塞栓症など)を伴わない場合を原発性移植片無機能と定義した。[2]

3. **Primary graft dysfunction** (原発性移植片機能不全)

(1)移植後 2-7 日に $\text{AST} > 2000 \text{ IU/L}$, (2)移植 7 日にプロトロンビン時間(INR) 1.6 以上、(3)移植 7 日に総ビリルビン 10mg/dL となった症例と定義した。[3]

4. **Post-reperfusion syndrome** (再灌流症候群)

再灌流以前の平均動脈圧から(1) 30%以上の平均動脈圧の低下が(2)再灌流から5分以内に起こり、かつ(3)1分間以上持続する低血圧と定義した。[4]

出版

1: Fukazawa K, Yamada Y, Nishida S, Hibi T, Arheart KL, Pretto EA, Determination of the safe range of graft size mismatch using body surface area index in deceased liver transplantation. *Transpl Int*. 2013 Jul; 26(7):724-33.

2: Fukazawa K, Yamada Y, Gologorsky E; Arheart K, Pretto EA, Hemodynamic recovery following post-reperfusion syndrome in liver transplantation. *J CardioVasc Anesth*. 2014, Aug; 28(4):1006-14.

3: Fukazawa K, Nishida S, Hibi T, Pretto EA, Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. *Clin Transplant*. 2013 Jul-Aug; 27(4):492-502.

第1章 本研究の目的

脳死肝移植は 1960 年代にはじめて Thomas Starzl 博士が米国コロラド州デンバーで成功して以降、米国だけでも 13 万件を超える手術が行われている。[5] (Figure 1)

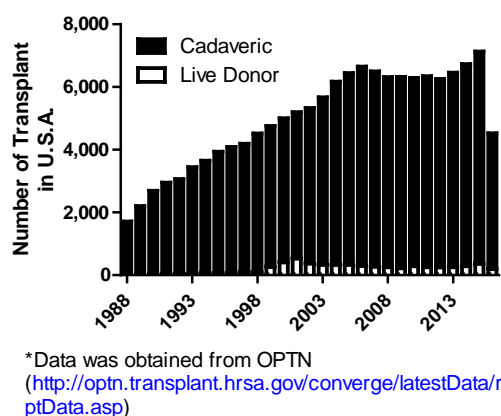
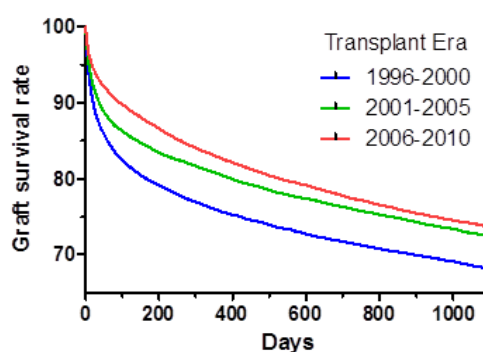


Figure 1. 米国内での脳死肝移植数の変遷

特に 1990 年代にサイクロスポリンをはじめとする免疫抑制剤の開発、University of Wisconsin (UW) 保存液の開発、[6,7] 静脈静脈バイパス術[8]やヒギーバック法[9]などのより安全な手術手技の開発、2004 年の MELD スコアリング[10-12]による移植片の効率的な分配法の導入を経て、著しい術後生存率の改善がみられている。(Figure 2) 1990 年代までは、実験的手法と考えられてきた肝移植手術も、今では 3 年生存率は 70%を超え、不可逆的な重症肝不全の有効な治療手段としての地位を確立するに至っている。[13]



*Survival Data was obtained from STAR database

Figure 2. 脳死肝移植における移植片生存率の変遷

このような肝移植の手技や管理法の確立に伴い、2000 年以降肝移植の研究対象の軸足が、いかに術後の合併症を減らし、長期的な予後を改善するかという点に、変遷してきている。

肝移植は、移植提供者の肝臓を被移植者の体内に移植するという手術手技の性質上、他の手術と著しく異なる特有の問題を伴う。移植片と被移植者の血液型の相違による合併症など、[14] 移植片を血液型のあった被移植者に分配することで容易に解決できる問題の他に、移植提供者と被移植者のサイズ格差、顕著な虚血再灌流による虚血再灌流症候群や移植片機能障害、免疫作用の抑制などは、特に重要な問題である。免疫抑制剤の過去 20 年に見る目覚ましい進歩に比べ、サイズ格差の問題や虚血再灌流に伴う分野は、予後決定に重要な役割を果たしていると考えられているが、臨床的に多くの問題が未解決のまま残されている。肝移植術中最も危険度の高い瞬間は、門脈クランプ開放に伴う虚血肝移植片の再灌流である。[4] 肝移植片の脈管内は、高濃度の K^+ を含む臓器保存液で満たされており、門脈クランプ開放後、肝静脈より被移植者の体内に急速かつ大量に流入する。[15-19] この肝移植片内に貯留した保存液は、低温である他、虚血中にたまった乳酸の影響で高度に酸性化している。そのため肝移植片から流出した保存液が、最初の臓器である心臓に到達すると、房室伝導を抑制し高度の徐脈を誘発するほか、心筋自体の収縮力も抑制し高度の低血圧に至る。これらの門脈再灌流後の臨床的な循環動態の変化を門脈再灌流症候群と呼ぶ。[4,20] 門脈の再灌流は心停止を引き起こすなど、重篤な合併症を伴うため、麻酔管理上大変重要である。また多様な炎症性物質が被移植者の体内を循環することで、全身性炎症反応を引き起こし、肝移植片の予後や患者の生存率に大きな影響を与える。[21] しかし、門脈再灌流症候群後の循環動態や寄与因子については、まだ十分な研究がなされていない。そこで本研究はこれらの分野にテーマを絞り、臨床的観点から移植片の予後規定因子を同定していくことを主眼にした研究を行った。まず第2章では、基礎となる

概論として、肝移植手術と循環動態や麻酔法、そして門脈再灌流についてのレビューを行った。門脈再灌流症候群は、移植片の障害に伴う組織の炎症の度合いが大きく関与していると考えられるため、肝移植片がドナーの体から摘出され、被移植者の体内で酸素を得て機能し始めるまでに、どのような障害を被るのかを知ることは、再灌流症候群の機序を解明し治療につなげていくために非常に重要である。そこで、肝移植片が移植に際して被る五段階の過程を規定した移植コンチナムの概念も併せてレビューした。第3章では、門脈再灌流症候群で大きな寄与因子となる臓器提供者と被移植者のサイズの違いを規定する指標を、脳死肝移植では初めて同定し、サイズの違いが与える門脈再灌流症候群や移植片機能予後への影響の研究を行った。第4章では、門脈再灌流症候群に寄与する因子や、門脈再灌流後の循環動態の変化を研究し、肝動脈吻合後を契機に循環動態が著しく回復するという新しい知見を得た。第5章では、門脈再灌流症候群に最も有効と考えられている門脈還流前の移植片のフラッシュの方法の違いによる門脈再灌流時の心停止やその他の合併症の頻度を比較し、大きな違いが出る原因を考察した。すべての研究は、後方視的臨床研究で、すべての患者の臨床データを取る前に、マイアミ大学の倫理委員会の承認を得た（マイアミ大学倫理委員会承認番号:20100812, 20081115, 20110592）。また公表された著作物からの引用に関しては、STM Permissions Guidelines 2012 (International Association of Scientific, Technical & Medical Publishers) に従った。

第2章 序論

2. 1. 肝移植手術及び麻酔法概論

肝臓は、代謝や消化、体温や恒常性の維持など生命維持にかかわる多様な機能を持ち、非常に重要な臓器である。肝移植手術は、不可逆の肝硬変により著しく機能の低下した肝臓を摘出し、移植片提供者からの肝臓を移植する手術である。現在では、移植予後の著しい改善に伴い、肝硬変に対する治療の選択肢の一つとして幅広く認識されている。肝臓は門脈や肝動脈から血液の供給を受け、肝静脈を通して下大静脈に血液を送り返している。肝移植手術は、大きく分けて、以下のような手順となっている。

1. 皮膚切開
2. 肝臓の周囲靱帯からの剥離
3. 門脈、肝動脈の切離
4. 下大静脈からの剥離
5. 下大静脈のクランプ及び、下大静脈もしくは肝静脈の切離
6. 肝静脈の吻合
7. 門脈の吻合
8. 門脈鉗子の開放と門脈再灌流
9. 肝動脈吻合
10. 肝動脈鉗子の開放と肝動脈再灌流
11. 胆道再建
12. 閉腹

このうち、治療不能で不可逆な肝障害を起こした被移植者の肝臓を取り除くまでを前無肝期（1-3）、および下大静脈の剥離から門脈再灌流までの無肝期（4-8）、そして被移植者の肝臓が再灌流されて機能し始める新肝期（9-12）の3段階から構成される。いずれの段階も著しい循環動態の変化を伴い、手術の手技に密接に関係しているので、肝手術の手順に沿って述べていく。

1. 前肝期

開腹から肝臓に流入する血流が遮断されるまでを前肝期と呼ぶ。肝臓へは腸管からの血流を運ぶ門脈と腹腔動脈の分枝である肝動脈からの血流がある。酸素は 50% ずつ肝動脈と門脈より供給されている。[22] 肝動脈の血流は、門脈血流によって調節されており、“hepatic artery buffer response” と呼ばれている。[23] 末期の肝臓は高度に線維化が進み、血管伸展性が低下し、末梢血管抵抗が慢性的に上昇した状態にある。これを門脈圧亢進症と呼ぶ。[24] この抵抗を下げ、門脈血流を改善するため血管拡張性物質（Nitric Oxide など）が肝類洞上皮細胞やクッパー細胞から放出され、腸間膜血管の拡張や側副血行路の拡大に寄与する。[25] 肝機能低下による凝固機能低下、門脈圧亢進症に伴う脾臓機能亢進による血小板減少とあいまって、これらの発達した側副血行路は前肝期の出血の原因になる。開腹後、これらの側副血行路を丁寧に処理しながら、肝周囲の癒着と靱帯を剥離する。最後に肝門部の門脈、肝動脈、胆管を丁寧に剥離後、肝動脈、門脈の順に結紮し、前肝期は終了する。この時点で肝臓は肝静脈および下大静脈のみとつながっており、可動性が高い状態になっている。

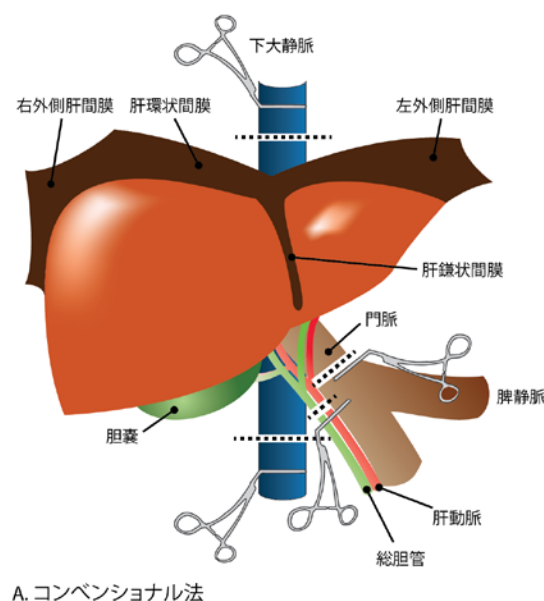
2. 無肝期

無肝期は大きく分けて、被移植者の肝臓を下大静脈から切離して体外に取り出す前半と、肝移植片を冷却された輸送保存用の容器から取り出し、肝静脈と門脈を吻合して門脈再灌

流をするまでの後半に分けられる。被移植者肝の切除は、肝臓の流出路を下大静脈から切除することで行われる。コンベンショナル法では、下大静脈周囲を十分剥離したのち、肝上下の下大静脈を閉塞、切断し、肝下面下大静脈ごと肝臓を取り出す方法である（Figure 3A）。下大静脈の完全閉塞を必要とする手技で、大きな循環変動を伴う。特に肝癌や、劇症肝炎の症例で、側副血行路が十分でない症例は、前負荷の急激な減少を伴うため、循環管理は困難を極める。初期の肝移植手術では多くの困難を伴ったが、静脈静脈バイパス法の確立や以下に述べるピギーバック法の導入により、循環管理の選択肢が広がり、現在では安定した管理が可能になった。[8,9] しかし多くの場合で、術者とのコミュニケーションが大変重要な時期でもある。

1989年にピッツバーグ大学の Andreas Tzakis らによって確立されたピギーバック法は、コンベンショナル法の大きな循環変化に伴う被移植者の負担を軽減する方法として考案された。

[9] コンベンショナル法と違い、肝臓を下大静脈から剥離し、下大静脈の部分遮断で被移植者の肝臓を摘出する方法である（Figure 3B）。下大静脈の吻合がコンベンショナル法では2か所なのに比べ、ピギーバック法では1ヶ所で済むため吻合時間が短縮でき、さらに術後狭窄が少ない利点もある。[26] いずれも現在多く利用されている手術手技である。



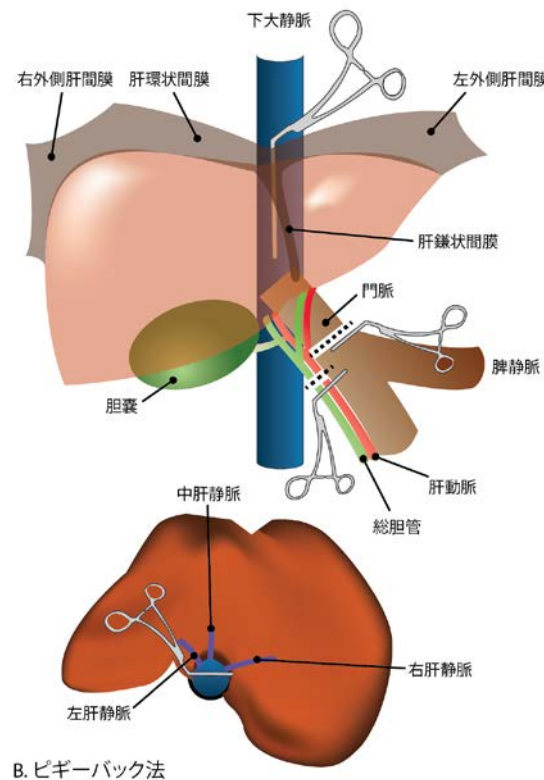


Figure 3. 肝移植の主な手術法 (A) コンベンショナル法 (B)ピギーバック法

後半の手技は、止血を十分目視確認してから始まる。肝臓を冷却された保存液から取り出し、被移植者の肝静脈(もしくは下大静脈)と移植片の下大静脈を吻合することから始まる。肝静脈吻合中もしくは吻合後、移植片をフラッシュし、十分保存液や肝移植片内に貯留した炎症性物質等を取り除いてから、門脈吻合に移る。門脈の吻合が終了すると無肝期は終わり、門脈再灌流を挟んで新肝期に入る。

3. 新肝期

新肝期は、肝移植中もっとも危険が高い門脈再灌流から始まる。門脈のクランプを開放すると、門脈を通して酸素が虚血状態の肝移植片に供給されるようになる。この酸素の供給が、大量の酸素フリーラジカルの産生を引き起こし、肝臓を含め多くの臓器に障害を引き起こし、ひいては、移植片や患者の術後生存期間などに大きく影響する。くわしくは、次章で触れる。肝移植片に流入した門脈血流は、肝微小循環を灌流し、低温、酸性、で高濃度のカ

リウムを含む臓器保護液を洗い流し、肝静脈を通して下大静脈から被移植者の体循環へと流入する。心臓に到達した保存液を含んだ肝移植片からの流出液は、心機能を抑制するほか、洞結節の神経伝導を遅くし、著しい心機能低下、徐脈、および前負荷の急激な増加に伴う肺高血圧症などが短時間の間に起こり、重度の循環虚脱が起こる。これは再灌流症候群と呼ばれる。[4] 再灌流後は肝動脈を吻合し、止血を確認して胆管を吻合する。以上が肝移植手術の一般的な流れである。

2. 2. 肝臓移植片の虚血再灌流 — 移植コンチナムの概念

前章では被移植者の観点から移植を見てきたが、移植片の観点から移植に至る過程を見ると、移植片が様々な障害を受けていく様子が理解しやすくなる。高機能な移植片を増やそうとする今日の移植研究の流れの中では、移植片保護の核となる概念であり、移植コンチナムと呼ばれている。[27] この概念は2000年にピッツバーグ大学の Ernesto Pretto, Jr.によって提唱された。移植コンチナムでは、肝移植片が被る障害を5の段階に分け定義している: 1. 前虚血期 (Preischemia)、2. ドナー期 (前保存期、Donor)、3. 冷虚血期 (臓器保存期、Preservation)、4. 虚血復温期 (Implantation)、5. 再灌流期 (Reperfusion)。以下にそれぞれのステージごとに補足していく。

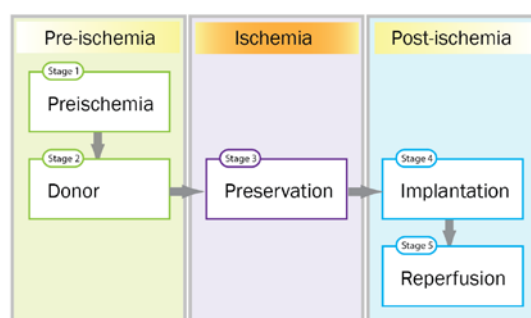


Figure 4. Diagram of the concept of “Transplant Continuum”. * [27] Pretto EA, Jr. Perioperative management of the recipient of the extended criteria cadaveric donor liver (ECDL): a metabolic approach. International anesthesiology clinics. 2006;44(4):79-96 より改変

ステージ1. 前虚血期 (Pre-ischemia stage) とは、移植の候補となる前のステージある。移植の候補となる前から臓器提供者が持つ潜在的な危険因子としては、臓器提供者の年齢、人種、糖尿病、高血圧、飲酒歴、麻薬使用歴、肝炎ウィルスへの感染、脂肪肝、肝硬変やその他の慢性肝障害の素因などが含まれる。[1,28] こういった素因を持つ移植片は、肝細胞の虚血に対する抵抗性が低くなっているほか、肝内の微小循環系の灌流障害が起こりやすく、虚血や再灌流の際、障害を受けやすくなると考えられる。

ステージ2. 前保存期 (Donor stage) とは、臓器提供者が脳死へ至る過程である。脳幹部が虚血により障害を受けると、脳幹部の血流を維持するために、大量のカテコラミンが放出さ

れ、末梢血管抵抗の著しい上昇から高血圧となる。[29] しかし、末梢血管抵抗が最高値に至ると、心拍出量が落ち始め、臓器血流が低下する。さらに脳幹部の機能低下により、除神経状態に陥り、著しい血圧変動がおこる。[30] こういった循環動態の著しい変化により、肝臓は障害を受ける。事実この前保存期の時間経過が移植片の予後に大きな影響を与えるとされる。[30] 細胞分子レベルでは、虚血に伴い、エネルギー代謝が好気性代謝から嫌気性代謝に移行し、肝細胞内の利用可能なアデノシン三リン酸(ATP)の著しい減少と乳酸の貯留を見る。[31] 乳酸の貯留による細胞内の酸性化を防ぐため、細胞表面上の $\text{Na}^+\text{-H}^+$ ポンプにより H^+ イオンが細胞外にかき出されるが、その一方 Na^+ イオンの細胞内貯留を生む。[32] [33] $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプは、ATP を必要とするため、虚血下では機能せず、代わりに $\text{Ca}^{2+}\text{-Na}^+$ ポンプが作動して、 Ca^{2+} イオンの細胞内貯留が起こる。[34] [35] こうした陽イオンの貯留が、再灌流後ミトコンドリア外膜の破裂とアポトーシス誘導因子の活性化につながっていく。また Ca^{2+} イオンの細胞内貯留は、キサンチンデヒドロゲナーゼをキサンチンオキシダーゼ(XO)にかえるプロテアーゼを活性化し、ATP の代謝産物であり、XO の基質でもあるヒポキサンチン(HX)が細胞内に著しく貯留する。[36] [37] これらの物質は、再灌流後に活性酸素種の生成のもとになる。[38,39] また肝細胞内のグリコーゲンやグルタチオンなどの抗酸化物質の量も減少する。[40-42] こうした肝細胞内の変化は、肝臓の血流が途絶え、移植片が切除、そして冷却された保存液に移されるまで続く。

ステージ3. 臓器保存期 (Preservation stage) 冷却された保存液の中に肝臓は移され、冷虚血期が始まる。冷却により肝臓内の細胞代謝は著しく低下し、また保存液は高浸透圧液のため細胞浮腫が抑えられ、肝細胞自体はこの時期は大きな変化はない。その一方、肝細胞以外の細胞 (伊東細胞、内皮細胞やクッパー細胞) は、この時期に障害を受ける。[36,43] (Figure 5) 多くの研究で、内皮細胞の障害の程度が、術後の移植片の機能と相関

することが示されている。[44-46] 障害に伴い、肝細胞を覆うように分布しているこれらの細胞が委縮し、肝細胞からブレブと呼ばれる突起物が肝微小循環内に突出するようになる。[45,46] (Figure 5, 6) これらのブレブは、肝微小循環の灌流の障害になる。またこの部位には、多核白血球が誘導され、炎症性物質や血管作動性物質を多く産生する。冷虚血における臓器の保存時間は、臓器保存液の種類によって異なる。現在最もよく使用されている UW 保存液では、単純な冷虚血下では、12 時間までの臓器保存が可能である。[6,47] しかし移植コンチナムにおける各段階における臓器の障害により、保存期間は大きく影響を受け、臨床的には一般に 10–12 時間以下が脳死移植での許容時間とされている。

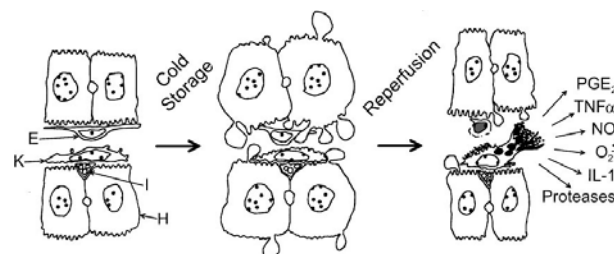


Figure 5. 虚血再灌流による肝細胞障害 冷虚血の間、肝細胞 (H: hepatocyte) は膨張し、ブレブを形成する。類洞血管内皮細胞 (E: endothelial cell) とクッパー細胞 (K: Kupffer cell) は縮小し円形になる。その影響で、肝細胞表面が類洞に顔を出すようになる。再灌流後、クッパー細胞は様々な炎症性物質を産生、放出する。Abbreviations hepatocytes (H), Ito cells (I), Kupffer cells (K), sinusoidal endothelial cells (E)
*[43] Lemasters JJ, Thurman RG. Reperfusion injury after liver preservation for transplantation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1997;37:327-38

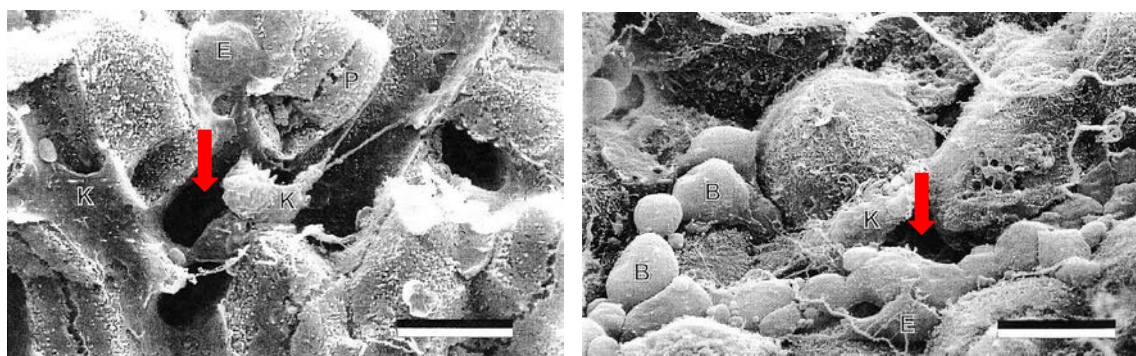


Figure 6. (左) 正常肝、(右) 肝細胞の虚血再灌流による障害 ラットの肝臓を UW 保存液で 18 時間保存後移植し、再灌流した肝臓の電子顕微鏡像。血管内皮細胞 (E) とクッパー細胞 (K) は萎縮してはっきりしなくなっている。浮腫の為、肝細胞 (P) の並びもはっきりしなくなっている。大きなブレブ (B) が、類洞 (赤

い矢印)を塞ぎ、黒い穴がなくなっている。この為、血液が十分微小循環を環流できず、再還流後も組織の虚血が続く、”no flow phenomenon”となる。*[48] Maddrey, W.C., E.R. Schiff, and M.F. Sorrell., *Transplantation of the liver*. 2001, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p.251-273.

ステージ4. 虚血復温期 (Implantation stage) は、臓器を冷却保存容器から取り出し、術野で肝静脈及び門脈の血管吻合をする間の期間である。臓器は表面から徐々に被移植者の体温で加温されていく。虚血状態の臓器が加温されるため、エネルギー消費が増大し、HX や XO が増加する一方、ATP や抗酸化物質がさらに減少する。肝微小循環内には、血小板や白血球、その他のさまざまな堆積物がたまり、再灌流後に無灌流症候群と呼び、部分的な還流障害の原因となる。こういった灌流障害は、温虚血を遷延させ、移植片機能の著しい低下につながる。また炎症性物質や、低温かつ酸性の保存液が肝微小循環内に蓄積しており、再灌流後の著しい心機能低下、あるいは心停止の原因になる。移植片のフラッシュは、再灌流後に心停止を効果的に抑制するほか、術後の移植片の予後の改善に、現時点で最も効果的な方法である。この点については、第5章で詳しく検討する。ラットを用いた実験では、臓器温度が、36℃から 38℃の間では、温度が低いほど再灌流後の臓器障害は少なくなるという報告がある。[49] これは低温により、臓器の代謝が低下したためと考えられる。その一方、再灌流時の臓器温度は高いほど臓器障害は少なくなるという報告もある。これは、高い臓器温度により、臓器内の血管抵抗が下がり微小循環の灌流が改善し、門脈再灌流後に早く、かつ隅々まで均一に臓器灌流が可能になるためと考えられる。[50,51] これらの過去の研究から、復温期間中は、出来る限り臓器温度を低温に維持して低い代謝を保ち、再灌流直前には臓器温度を十分に復温することという温度管理が必要となる。門脈再灌流前のフラッシュ及び灌流は、上記に述べた保存液の除去だけでなく、この臓器の復温や微小循環の灌流とも関連があり、この点も第5章で詳しく検討する。また温虚血は、時間的にも制限があり、臨床的に復温時間は 60 分以内が許容時間の目安とされている。

ステージ5. 再灌流期 (Reperfusion stage) は、門脈の開放に伴い酸素が虚血肝に供給され、肝移植片の虚血が終了する。肝臓を灌流した被移植者の血液は、被移植者の体循環に合流し心臓へと到達する。この肝臓からの流出液は低温、酸性かつ高濃度の K^+ 及び高濃度の血管拡張性物質を含み、門脈解放直後の高度な循環不全の原因になる。この循環不全を再灌流症候群といい、肝移植の管理に中でもっとも注意を要する。このように移植片は各ステージごとに様々な障害を受けるため、各ステージで肝臓の障害を少なく抑えることができれば、術後により高機能な移植片を維持することにつながる。高機能な肝移植片は合併症が少なく、高い被移植者の生存率を達成できることから、患者の生存率の上昇、ひいては医療費の抑制にもつながると考えられ、今後の移植医療に重要な貢献をもたらすと期待される。

第3章 脳死肝移植における移植片サイズ不均衡が与える術後合併症発症率への影響と加法モデルを用いた移植片サイズの許容範囲の同定

3.1 序論

肝移植では、序論でも論じたように、移植片を被移植者の体内に移植することに由来して、移植特有の問題が存在する。臓器のサイズ不適合は、免疫抑制、臓器の分配、虚血再灌流などと共に非常に重要なテーマの一つである。特に生体肝移植では、健康な成人である臓器提供者が自ら生存するのに必要な肝臓の大きさを残しつつ、被移植者の代謝需要に応えられるに十分な大きさの肝臓を切除する必要があることから、その重要性が早くから認識されてきた。[52,53] 被移植者の代謝需要に満たない小さい肝臓では、肝動脈血栓症や移植片機能不全に陥る過少移植片症候群 (small-for-size syndrome) が、過大な肝臓では過大移植片症候群 (large-for-size syndrome) が、移植片や被移植者の予後に大きな影響を与える。[54,55] その一方で、脳死肝移植では、移植片のサイズの予後に与える影響は、これまであまり研究がなされてきていない。その一因として、サイズ不均衡の程度を数量化する簡便な指数が発見されていないことや、こうした指数が移植片や被移植者の予後に与える影響は非線形分布となるため、従来の統計的手法が使えないなどといった問題点が挙げられる。体表面積 (body surface area, BSA) は体重に比べ余分な体脂肪の量に左右されにくく、代謝容積の推定に良い指標とされている。[56] また肝臓の体積とも良く相関し、かつ簡便な指標であるため、生体肝移植ではサイズ不均衡を同定するのによく用いられて

いる。特に被移植者の肝臓の容積を推定する為の指標として、standard liver volume (SLV) がよく知られており、SLV は以下のように BSA を基に計算される。

$$\text{SLV (mL)} = 706.2 \times \text{BSA (m}^2\text{)} + 2.4 \quad [53]$$

そこで、我々は、臓器提供者と被移植者の BSA の比を取った BSA_i という新しい指標を考案した。[57] 以前 BSA_i を用いた研究では、BSA_i<0.6 及び BSA_i>1.4 が移植片生存率に統計的に有意な影響があるとの結果を得た。[57] 今回は、BSA_i の移植片生存率に対する非線形的な影響を連続的に測定するため、比較的新しい統計手法である加法モデルを使用し、脳死肝移植における肝臓の必要体積を算出することを検討した。

3. 2 方法

2005 年から 2010 年に、米国で行われた全ての脳死全肝移植の被移植者 (32,072 症例) を研究対象とし、後方視的調査を行った。患者情報は、米国の United Network of Organ Sharing (UNOS) より公開されている Organ Procurement and Transplant Network database (STAR database) を使用した。このデータベースでは、患者の個人情報あらかじめ削除されている。18 歳以下の症例 (3,009 症例)、生体肝移植 (1,301 症例)、分割部分肝移植 (2,343 症例)、多臓器の移植も同時に行った症例 (4,521 症例) は除外した。さらに BSA を計算するのに必要な情報が欠如している症例 (1,122 症例) も除外した。最終的に 24,509 症例を検討した。BSA_i は以下の方法で算出した。

$$\text{BSA}_i = \text{ドナーの体表面積 (BSA-donor)} \div \text{被移植者の対表面積 (BSA-recipient)}$$

研究のエンドポイントとして、肝移植片機能不全の頻度を使用した。肝移植片機能不全を移植後に起こした症例は、UNOS の診断コードを使用し同定した。患者の特性を以下の Table. 1 にまとめる。

Table 1. Baseline Characteristics of Donors and Recipients from STAR database (2005-2010)

Variables	N†	Mean ± S.E.M.		
Recipient	-	-		
Demographic	-	-		
Age	24,505	53.7	±	0.1
Body surface area	24,505	1.97	±	0.00
Ethnicity	24,505	-		
White-Nonhispanic	17,668	72.1	%	
White-Hispanic	3,186	13.0	%	
African American	2,279	9.3	%	
Liver diagnosis	24,505	-		
Hepatitis C	7,352	30.0	%	
Hepatitis B	711	2.9	%	
Alcoholic	4,141	16.9	%	
Biliary cirrhosis	1,838	7.5	%	
Laboratory values at transplant	-	-		
Albumin	24,500	3.0	±	0.0
Creatinine	24,451	1.4	±	0.0
PT-INR	24,503	1.9	±	0.0
Sodium	24,503	136.0	±	0.0
Total bilirubin	23,424	8.4	±	0.1
MELD score	24,451	21.4	±	0.1
Donor	-	-		
Demographic	-	-		
Donor age	24,505	41.9	±	0.1
Body surface area	24,505	1.92	±	0.00
Ethnicity	24,505	-		
White-Nonhispanic	16,345	66.7	%	
White-Hispanic	3,210	13.1	%	
African American	4,190	17.1	%	
Donor quality	-	-		
Donor risk index¶	24,505	1.70	±	0.00
Donor Cause of Death				
Anoxia	4,656	19.0	%	
Cerebro-Vascular Accident	10,366	42.3	%	
Warm ischemia time	24,505	48.0	±	0.1
Donor steatosis: Macro Fat (%)				
Moderate (30-60%)	223	0.91	%	
Severe (>60%)	34	0.14	%	
Donor steatosis: Micro Fat (%)				
Moderate (30-60%)	323	1.32	%	
Severe (>60%)	137	0.56	%	
Cold Ischemia Time	23,314	7.1	±	0.0
Donor-Recipient Size Mismatch				
Body Surface Area Index (BSAi)	24,505	0.99	±	0.00

Data are means ± S.E.M. †Number of patients with data available, ¶ Donor risk index without height ([58]
Fukazawa K, Yamada Y, Nishida S, Hibi T, Arheart KL, Pretto EA Jr. Determination of the safe range of

graft size mismatch using body surface area index in deceased liver transplantation. Transpl Int. 2013 Jul; 26(7):724-33)

まず多変量コックス比例ハザードモデルを用いて、移植片の 3 年生存率に対する臓器提供者と被移植者の寄与因子を同定した。サイズ不適合の短期から中短期の影響を見るため移植片の 3 年生存率を使用した。次に、移植片の 3 年生存率に対するサイズ不適合の影響を一般加法モデルを用いて解析した。多変量コックス比例ハザードモデルで、移植片の 3 年生存率に影響のある寄与因子および BSAi を使用した。その後、スプライン平滑化法を用いて、臓器提供者と被移植者のサイズ不適合が与える移植片の 3 年生存率への非線形効果を計測した。BSAi が 0.46 から 1.52 の範囲で危険リスク比を算出した。

この結果をもとに、過少移植片 (SFS) を $BSAi < 0.78$ 、正常移植片 (NFS) を $0.78 \leq BSAi \leq 1.24$ 、と過大移植片 (LFS) を $BSAi > 1.24$ と定義した。この 3 群間での、移植片の生存率や合併症の頻度をカイ二乗検定にて検討した。患者の合併症は UNOS の診断コードを使用した。UNOS は、移植片機能不全の原因として、原発性移植片機能不全、血栓症、胆道系合併症とその他に分類している。この研究ではこの分類を使用した。グループ別の患者の特性を Table. 2 にまとめる。

Table. 2 Baseline characteristics of donors and recipients among three size mismatch groups.

										P value		
										SFS vs. NFS	SFS vs. LFS	NFS vs. LFS
Recipient												
Age	53.5	±	0.2	53.8	±	0.1	53.0	±	0.3	0.505	0.373	0.022
Laboratory values at transplant												
Creatinine (mg/dL)	1.5	±	0.0	1.4	±	0.1	1.3	±	0.0	<0.001	<0.001	0.123
PT-INR	1.9	±	0.0	1.9	±	0.0	2.0	±	0.0	0.525	0.706	0.131
Sodium (mEq/L)	136.0	±	0.1	136.0	±	0.0	136.0	±	0.1	0.982	0.739	0.520
Total bilirubin (mg/dL)	8.8	±	0.3	8.3	±	0.1	9.5	±	0.3	0.151	0.200	0.001
MELD score	22.1	±	0.2	21.2	±	0.1	22.2	±	0.3	0.001	0.984	0.002
Donor												

Age	38.7	±	0.4	42.2	±	0.1	41.9	±	0.4	<0.001	<0.001	0.772
Donor risk index¶	1.53	±	0.01	1.51	±	0.00	1.52	±	0.01	0.247	0.924	0.615
Cause of death												
Anoxia	20.0	%		18.8	%		20.1	%		0.380	0.997	0.437
CVA	44.7	%		42.1	%		42.2	%		0.071	0.311	1.000
Warm ischemia time (min)	41.1	±	1.1	41.9	±	0.3	41.9	±	1.2	0.734	0.897	0.998
Cold ischemia time (hr)	7.3	±	0.1	7.1	±	0.0	7.1	±	0.1	0.295	0.284	0.796
Macro-Steatosis												
Mild (<30%)	25.4	%		30.4	%		34.7	%		<0.001	<0.001	0.001
Moderate (30-60%)	0.6	%		0.9	%		1.4	%		0.380	0.032	0.100
Severe (>60%)	0.2	%		0.1	%		0.3	%		0.976	0.686	0.421

Data are means ± S.E.M. ¶ Donor risk index without height. ([58] Fukazawa K, Yamada Y, Nishida S, Hibi T, Arheart KL, Pretto EA Jr. Determination of the safe range of graft size mismatch using body surface area index in deceased liver transplantation. Transpl Int. 2013 Jul; 26(7):724-33)

3. 3 結果

加法モデルを用いた結果を Figure. 7 にまとめた。このグラフで x 軸は BSAi 値、y 軸は移植片の 3 年生存率に対する危険リスク比を示している。サイズ不適合は非線形的に移植片の 3 年生存率に影響しており、過少および過大移植片は、予後が悪いことを示している。この結果は加法モデルを用いた非線形モデルが、サイズ不適合の移植片の予後に及ぼす影響を調べるのに、最適であることを示している。またこの結果から、有意に移植片の予後に影響が現れるのは、移植片のサイズが BSAi が 0.78 以下の過少移植片と BSAi が 1.24 以上の過大移植片である。いずれもサイズ不適合が増大するにつれて、移植片の生存率が悪くなることを示している。

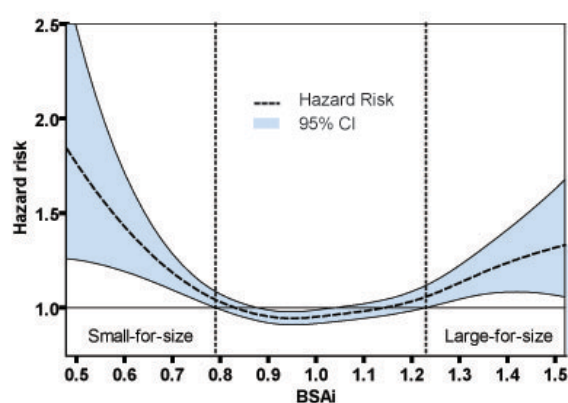


Figure 7. Body surface area index and hazard risk of graft failure. N = 24, 509. Blurred area represents 95% confidence intervals of hazard related to each BSAi value. Hazard for 3 year graft survival is significantly increased (both upper and lower 95% confidence interval becomes above 1.000) if BSAi is below 0.78 or over 1.24. ([58] Fukazawa K, Yamada Y, Nishida S, Hibi T, Arheart KL, Pretto EA Jr. Determination of the safe range of graft size mismatch using body surface area index in deceased liver transplantation. *Transpl Int.* 2013 Jul; 26(7):724-33)

この結果をもとに、症例を 3 群に分け 3 年予後への影響を分析した。(Figure 8) 3年予後は、過少移植片群 (n=1,713) 71.2%, サイズ適合移植片群 (n=21,399) 74.2%, 過大移植片群 (n=1,393) 71.1%であり、過少および過大移植片群の 3 年予後はサイズ適合群に比べて有意に低かった。(過少移植片群 vs. サイズ適合移植片群, $p<0.001$, 過大移植片群 vs. サイズ適合移植片群, $p<0.001$)

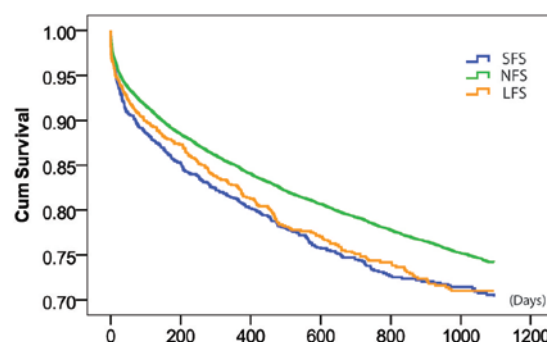


Figure 8. Cumulative effect of size mismatch on 3-year graft survival in newly defined three size mismatch groups. Graft survival was analyzed by the Kaplan–Meier Survival Model with Generalized Wilcoxon analysis. N = 1,713 in small-for size, N = 21, 399 in normal-for-size, and N = 1393 in LFS. Three-year graft survivals were 71.2% in small-for-size, 74.2% and 71.1% in LFS group (small-for size vs. normal-for-size $P<0.001$ and LFS vs. normal-for-size $P<0.001$). Abbreviations: LFS, large-for-size; NFS, normal-for-size; and SFS, small-for-size. ([58] Fukazawa K, Yamada Y, Nishida S, Hibi T, Arheart KL, Pretto EA Jr. Determination of the safe range of graft size mismatch using body surface area index in deceased liver transplantation. *Transpl Int.* 2013 Jul; 26(7):724-33)

この3群で移植後の合併症を検討した。(Table 3) 過少移植片群では、原発性移植片機能不全の頻度が有意に高かった。(過少移植片群 1.3% vs. サイズ適合移植片群 0.8%, $p = 0.036$). さらに移植片機能不全の頻度も有意に高かった。(過少移植片群 4.3% vs. サイズ

適合移植片群 3.0%, $p = 0.007$). 移植後血栓症の頻度は、過少移植片群で有意に高かった。
 (過少移植片群 2.7% vs. サイズ適合移植片群 1.4% vs. 過大移植片群 1.2%, 過少移植片群 vs. サイズ適合移植片群: $p < 0.001$, 過少移植片群 vs. 過大移植片群: $p = 0.002$).
 早期拒絶反応は、過小移植片群で高かったが有意差は見られなかった。(過少移植片群 1.3% vs. サイズ適合移植片群 0.9%) 再移植の頻度は過少移植片群で有意に高かった。
 (過少移植片群 10.5% vs. サイズ適合移植片群 8.3%, $p < 0.0001$) 一方過大移植片群では、移植片機能不全や移植後血栓症の頻度には有意差は見られなかった。早期拒絶反応の頻度は、有意差ではなかったものの過大移植片群で高かった。(サイズ適合移植片群 0.9% vs. 過大移植片群 1.3%) 再移植の頻度は過大移植片群で有意に高かった。(サイズ適合移植片群 8.3% vs. 過大移植片群 10.0%, $p = 0.046$)

Table 3. Cumulative effect of size mismatch on the incidences of post-transplant complications in newly defined three size mismatch groups.

N.	Time of Occurrence (Days) [†]	SFS 1,713	NFS 21,399	LFS 1,393	Overall 24,505
PNF	-	23 (1.3%) *	169 (0.8%)	9 (0.6%)	201 (0.8%)
Primary Graft Failure (A.)	30 [1-1070]	62 (4.3%) **	520 (3.0%)	38 (3.3%)	620 (3.1%)
Vascular Thrombosis (B.)	26 [1-1070]	47 (2.7%) ***	310 (1.4%)	17 (1.2%)	374 (1.5%)
Biliary Complication (C.)	180 [2-1054]	23 (1.3%)	201 (0.9%)	13 (0.9%)	237 (1.0%)
Acute Rejection (D.)	203 [1-1064]	22 (1.3%)	194 (0.9%)	18 (1.3%)	234 (1.0%)
Infection (E.)	195 [4-1070]	13 (0.8%)	128 (0.6%)	10 (0.7%)	151 (0.6%)
Total (A+B+C+D+E)		167 (9.7%)	1,353 (6.3%)	96 (6.9%)	1,616 (6.6%)
Retransplantation	-	179 (10.5%) ****	1,786 (8.3%)	139 (10.0%) *****	2,104 (8.5%)

The incidence of post-transplant primary nonfunction (PNF), primary graft dysfunction, vascular thrombosis, biliary complications, acute rejection, and infection as well as retransplantation of those three groups were analyzed by Pearson chi-square (χ^2) test with post hoc Tukey test. *Compared to NFS: $P = 0.036$, ** Compared to NFS: $P = 0.007$, ***Compared to NFS: $P < 0.001$, LFS: $P = 0.002$, **** Compared to NFS: $P < 0.001$, ***** Compared to NFS: $P = 0.046$, [†] data were shown in median value with range. *Abbreviations: LFS, large-for-size; NFS, normal-for-size; and SFS, small-for-size.*

3. 4 考察

移植に特異的な問題として、被移植者と臓器提供者のサイズの不一致がある。移植片の肝容積が、被移植者の代謝需要に満たなければ、肝臓は障害を受ける。さらに肝動脈や門脈のサイズの違いは吻合を困難にする他、相対的狭窄の一因になる。過少移植片症候群は、被移植者の門脈血流に対して比較的小さい肝内微小血管網からくる血管抵抗が大きいことにより起こってくる。[59-61] 不十分な酸素運搬は虚血再灌流によって既に障害されている肝臓移植片の障害を増悪し、原発性移植片機能不全や移植早期の拒絶反応の頻度を高める。[62-64] さらにその影響は肝臓外臓器にも及び、呼吸不全や腎機能障害を併発し、再移植しなければ死に至る。[65,66] さらに門脈の過剰血流は、肝門脈系の毛細血管内皮細胞障害から門脈、肝動脈血栓症や胆管障害を引き起こす。[67] この過少移植片症候群を防ぐため、生体肝移植では、正常な肝臓では、25%以上、脂肪肝、化学療法などで障害のある肝臓では 40%以上、移植臓器提供者の肝実質を残すことが、臓器提供者の生存に必要とされている。[68,69] 生体肝移植では、3D CT scan を使用し、肝の体積を細かく評価したうえで、SLV (40-50%) や GWRBW (0.8-1.0%) などの簡便な指標を使って、切除線を決めており、これが生体肝移植の成功に大きく寄与している。[54] 一方、脳死肝移植では、移植片の虚血時間を最小限にするため、多くは緊急手術である。したがって移植提供者の肝臓容積を測定する時間がほとんどないため、簡便なサイズ不適合の指標の開発が不可欠である。しかし従来の統計学的手法は、線形的な相関関係を仮定しているため、サイズ不適合を予測する因子の同定が困難であった。今回の研究では、我々が考案したサイズ不適合の指標としての BSAi の妥当性を検討するために、加法モデルを用いて BSAi が移植片の臨床的予後に与える影響を調査した。

今回の研究の結果、移植片予後に影響を与えるサイズ不適合の範囲を、過少移植片症候群を防ぐのには、78%以上の移植片サイズが、過大移植片症候群を防ぐのには、124%以下の移植片サイズが必要であるとの結果を得た。過少移植片の定義に関しては、生体肝移植の場合の 60%以上の移植片サイズに比べ、脳死肝移植の方が大きいドナーを必要とすることになる。これは、生体肝移植に比べ、脳死肝移植が、臓器提供者が様々な併存する病気を持っていることや(移植コンチナム-ステージ 1)脳死の際の血圧変動で障害を受けていること(移植コンチナム-ステージ2)、移植片の運搬中の冷虚血、(移植コンチナム-ステージ 3)、などで肝移植の際移植片が受ける障害の程度が強いことが考えられる。したがって、必要な肝の体積が、生体肝移植より大きいのは、理に適っているといえる。さらに移植後の移植片の生存期間は、BSAi で規定した過少移植片群と過大移植片群で有意に低くなっており、これらも臨床的な経験に合致する。術後の合併症を見ると、過少移植片群では、原発性移植片機能不全、門脈や肝動脈の血栓症、さらには再移植の頻度が有意に高くなっていた。

過大移植片群では、生存率が移植後 200 日以降に落ち込み、最終的には、3 年後生存率は、過少移植片群と同じになっていた。今回の研究対象では、急性拒絶による再移植は術後平均 200 日ごろに発生しており、過大移植片群に急性拒絶が有意に多いため、200 日を超えての移植片生存率が落ち込んでいると考えられた。この結果は木内らによる報告と一致している。[54] 急性拒絶が過大移植片症候群に多い理由として、サイズの大きい移植片には脂肪肝が多く含まれている可能性があり、[70] 虚血再灌流障害を受けやすい可能性などが考えられる。

この研究は後方視的研究で限界もある。例えば、全肝移植の過少移植片は、移植片の回転や移動に伴う脈管系の合併症(血栓塞栓症や肝静脈の閉塞)など技術的な合併症など

も考えられるが、今回使用した STAR データベースにそのような情報は含まれていない。また末期の肝硬変患者では、腹水、胸水や浮腫などの体液過剰の状態であることが多い。過剰な体液は体重と身長から計算されるパラメーター (body mass index (BMI), body surface area (BSA), ideal body weight) は影響を受ける。この場合 BSA は正確に被移植者の肝臓の体積と相関しなくなる可能性がある。生体肝移植では、新たに胸郭径を用いた肝臓の体積の推定法なども考案されてきている。[71] にもかかわらず BSAi は簡便で緊急手術で、肝臓の体積の評価する時間が限られている、脳死肝移植に適した指標だと考えられる。

BSAi は簡便かつ適確に臨床的サイズ不適合を規定する良い指標であることが、この研究で示された。BSAi の積極的な運用によりサイズ不適合を減らすことは、移植片や被移植者の生存率を向上するうえ、術後合併症を減らしたり、再移植までの長い ICU 滞在を減らすことにつながると考えられる。さらに再移植自体を減らすことができれば、その移植片を他の移植待機患者に回すことができるようになる。これは移植片の効果的な分配につながり、かつ医療費削減に貢献すると予想される。

第4章 脳死肝移植における再灌流後症候群への寄与因子の同定及び移植片因子の循環動態回復に与える影響の解析

4. 1 序論

再灌流に伴う大きな循環変動は、肝移植手術中に肝移植片が被る障害の重大な寄与因子であり、被移植者の合併症の増加に関与するうえ、移植片ひいては被移植者予後を大きく悪化させる原因となる。序章でも述べたように、再灌流における循環障害の原因としては多くの機序が考えられており、例えば肝移植片からの保存液の流出に伴う温度、電解質、酸塩基平衡の変化や、肝移植片に被移植者血が流入することによる血液容量の変化及び不整脈の発生や、心筋収縮力の減少、そして肝移植片の虚血に伴う血管麻痺などが挙げられる。しかし再灌流症候群に伴う循環変動が与える肝移植片の予後への影響は、未だに解明されていない。そこで、単一施設での比較的多くの症例を後方視的に調査し、再灌流症候群の頻度、寄与因子、再灌流後の循環動態の変化、肝移植片の機能予後を研究した。

4. 2 方法

マイアミ大学ジャクソン記念病院の倫理委員会の承認を得たのち、1997年から2008年の間に行われた脳死肝移植1024症例を対象にして検討を行った。再移植の症例(207症例)、縮小及び分割肝移植(24症例)、多臓器の同時移植(小腸、心臓、腎臓など、53症例)、ドミノ移植(5症例)、生体肝移植の症例(20症例)は除外した。

肝移植手技

すべての肝移植は、脳死患者で、かつABO血液型適合の移植片を使用した。肝臓の血管吻合は、1. 被移植者の肝静脈と移植片の肝上部下大静脈吻合、2. 門脈吻合と再灌流、3. 肝動脈吻合の順で行われた。

再灌流症候群の重症度に寄与する因子は単変数、そして多変数回帰分析モデルを用いて分析を行った。多変数回帰分析には、各因子の独立性を調査するため、単変数回帰分析の結果を基に、再灌流症候群に寄与する因子を、変数減少法を使用して検討した。再灌流症候群の循環動態の回復及び肝移植片の予後への影響を調査するため、患者を再灌流症候群の有無によって二群に分けた。再灌流症候群は、Aggarwal の定義に準じ、再灌流以前の平均動脈圧から(1)30%以上の平均動脈圧の低下が(2)再灌流から 5 分以内に起こり、かつ(3)1 分間以上持続する低血圧と定義し、これに該当する症例を再灌流症候群に含めた。[4] 二群間の比較では、肝移植片の移植後生存率の寄与因子となりうる背景因子の相違による影響を排除するため、プロペンシティー法を用いた。解析ソフトとして一般に公開されている PSmatch2 を使用し、背景因子で両群間に差のあった被移植者の移植前のプロトロンビン時間、血漿ナトリウム、及び移植片の温虚血時間、からプロペンシティー変数を計算した。[72] プロペンシティスコア-による背景因子のマッチングには、Nearest Neighboring 及び復元抽出法を用いた。プロペンシティスコア法により、背景因子を調整したのち、移植後比較的早期の予後への影響を評価するため、1 年肝移植片の生存率、60 日間の早期拒絶反応の頻度をカプランマイヤー法及びウィルコクソン分析を用いて分析した。また、循環動態の情報(血圧、中心静脈圧)は、1 分おきに電子麻酔記録より抽出した。肝動脈吻合後の循環動態の回復は、肝動脈再灌流およびその後 30 分間の血圧の傾きにより検討した。昇圧薬の使用量も背景因子調整後、再灌流前、再灌流後から肝動脈再灌流前、肝動脈再灌流後の3時期において、マンホイットニー検定を用いて二群間を比較した。

解析には GraphPad Prism version 5 (GraphPad Software, San Diego, USA)、PASW (IBM, Chicago, USA)、Intercooled STATA version 11(STATA, Texas, USA)を使用した。患者の特性を Table. 4 にまとめる。

Table. 4 Study Population

Variables	Units	Non-PRS group		PRS group		p value
Recipient (N)		489		226		
Body surface area	(m ²)	1.49	± 0.03	1.43	± 0.02	0.113
Percentages of Male	(%)	62		54		0.337
Age at transplant	(y)	54.0	± 1.3	52.2	± 1.0	0.324
MELD		20.8	± 0.8	22.3	± 0.7	0.271
Diagnosis						
HCC	(%)	26.6		33.6		
HBV	(%)	10.1		6.8		
HCV	(%)	46.8		58.2		
Alcoholic	(%)	22.8		17.8		
PBC, PSC	(%)	0.0		0.0		
Autoimmune	(%)	1.3		3.4		
Cryptogenic	(%)	1.3		0.0		
Liver function						
PT	(sec)	18.2	± 0.5	18.3	± 0.3	0.921
Creatinine	(mg/dL)	1.1	± 0.1	1.2	± 0.1	0.488
Total bilirubin	(mg/dL)	7.2	± 0.8	7.5	± 0.4	0.678
Sodium	(mEq/L)	137	± 0.5	138	± 0.3	0.767
Platelet	(x10 ³ cells/mL)	98	± 6.4	115	± 6.4	0.331
Donor						
Body surface area	(m ²)	1.44	± 0.03	1.42	± 0.02	0.062
BSA index		0.98	± 0.01	0.99	± 0.01	0.593
Percentages of Male	(%)	48		37		0.134
Age at transplant	(y)	43.2	± 2.0	46.5	± 1.3	0.486
Cause of death						
CVA	(%)	6.3		11.6		0.663
Anoxia	(%)	7.6		0.7		0.160
Transplant						
Cold ischemia time	(min)	417.0	± 9.7	412.0	± 4.2	0.602
Warm ischemia time	(min)	40.6	± 0.9	39.2	± 0.5	0.219
Donor risk index [†]		1.82	± 0.04	1.82	± 0.03	0.100

Data are means ± S.E.M. † Donor risk index without height¹², Abbreviations: BSA: body surface area, BSA index: ratio of body surface area ($=BSA_{DONOR}/BSA_{RECIPIENT}$), CVP: central venous pressure, HBV, hepatitis B virus, HCV: hepatitis C virus, HCC: hepatocellular carcinoma, MELD: models for end stage liver disease; PBC: primary biliary cirrhosis, PRS: post-reperfusion syndrome, PSC: primary sclerosing cholangitis, PT: prothrombin time. ([73] Fukazawa K, Yamada Y, Gologorsky E, Arheart KL, Pretto EA Jr. Hemodynamic

recovery following postreperfusion syndrome in liver transplantation. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2014 Aug; 28(4):1006-14)

4. 3 結果

ジャクソン記念病院における調査期間中の再灌流症候群の頻度は31.6%であり、再灌流症候群による術中死は0.3%であった。再灌流症候群の危険因子として、多因子解析の結果、臓器提供者の年齢(オッズ比 0.004, $p=0.007$)、donor risk index DRI (オッズ比 0.038, $p=0.014$)、再灌流前の中心静脈圧(オッズ比 -0.002, $p=0.021$)を同定した。(Table 5)

Table 5 Independent predictors of risk for PRS identified by multivariate linear regression model

Variable	Univariable Analysis		Multivariable Analysis	
	Co-efficient (95%CI)	p	Co-efficient (95% CI)	p
Recipient				
Demography				
Percentages of Male (%)	0.004 (-0.019 to 0.026)	0.739		
Age at transplant (y)	0.001 (0.000 to 0.003)	0.120		
MELD	0.001 (-0.001 to 0.004)	0.183		
Liver function test				
PT (sec)	0.004 (0.000 to 0.007)	0.041	0.001 (-0.001 to 0.003)	0.404
Fibrinogen (mg/dL)	0.000 (0.000 to 0.000)	0.697		
Creatinine (mg/dL)	0.009 (-0.006 to 0.024)	0.258		
Total bilirubin (mg/dL)	0.001 (-0.001 to 0.003)	0.230		
Sodium (mEq/L)	-0.003 (-0.006 to 0.000)	0.039	-0.002 (-0.004 to 0.000)	0.085
Platelet ($\times 10^3$ cells/mL)	0.000 (0.000 to 0.000)	0.969		
Donor				
Demography				
BSA index	0.128 (0.048 to 0.208)	0.002	0.050 (-0.009 to 0.108)	0.095
Percentages of Male (%)	0.008 (-0.013 to 0.030)	0.462		
Age at transplant (y)	0.001 (0.000 to 0.001)	0.019	0.001 (0.000 to 0.002)	0.007*
Cause of death				
Cerebro-vascular accident	0.036 (-0.019 to 0.091)	0.201		
Anoxia	-0.496 (-1.278 to 0.287)	0.214		
Transplant				
Cold ischemia time (min)	-0.004 (-0.049 to 0.041)	0.858		
Warm ischemia time (min)	0.001 (-0.001 to 0.002)	0.478		
Donor risk index [†]	0.030 (0.001 to 0.059)	0.044	0.038 (0.008 to 0.069)	0.014*¶
Hemodynamics				
CVP at reperfusion (mmHg)	-0.002 (-0.003 to -0.001)	0.006	-0.002 (-0.004 to 0.000)	0.021*
Metabolic data at reperfusion				
pH before reperfusion	-0.274 (-0.487 to -0.062)	0.012	-0.114 (-0.286 to 0.058)	0.192
Calcium (mmol/L)	-0.035 (-0.092 to 0.022)	0.223		
Body temprature (°C)	-0.004 (-0.056 to 0.047)	0.866		

[†]Donor risk index without height¹², ¶ Multivariable analysis without DRI to avoid multi-collinerlity, Abbreviations: BSA, body surface area, BSA index, ratio of body surface area ($=BSA_{DONOR}/BSA_{RECIPIENT}$) [57], CVP, central venous pressure, MELD, models for end stage liver disease; PT, prothrombin time. ([73]

Fukazawa K, Yamada Y, Gologorsky E, Arheart KL, Pretto EA Jr. Hemodynamic recovery following postreperfusion syndrome in liver transplantation. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2014 Aug; 28(4):1006-14)

Figure 9に715症例の再灌流後の血行動態の変動を示した。我々はこのグラフの特徴的な血行動態の変化に着目し、再灌流後の血行動態の変化を3期間に分類し定義した。第一段階は、門脈再灌流直後の特徴的な著しい血圧低下と、それに続く急速輸液と昇圧剤投与に伴う急激な血圧の再上昇に特徴づけられる。第二段階は、その後、肝動脈再灌流までのゆっくりとした血圧低下に特徴づけられる。最後の段階は、肝動脈後の再灌流後のゆっくりとした血圧の上昇に特徴づけられる。

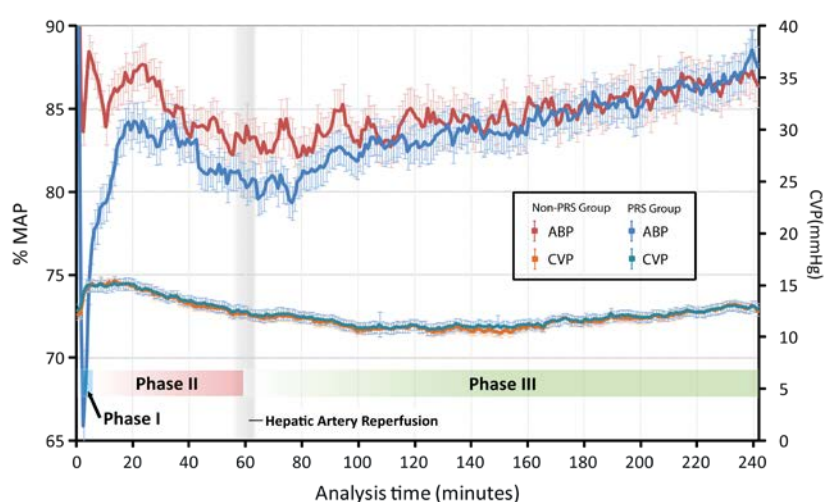


Figure 9. Hemodynamic changes after portal vein reperfusion. Phase1: Change in mean arterial blood pressure was significantly larger in PRS group (% decrease in MAP = 16.4 ± 0.8 vs. $34.0 \pm 1.0\%$, $p < 0.001$) without significant difference in CVP (13.1 ± 0.7 vs. 11.7 ± 0.4 mmHg, $p = 0.08$). Significant differences in pattern of hemodynamic changes were seen within first 15 minutes following PVR. MAP recovery after initial hypotension was rapid in both groups. Phase2: The time to HAR was characterized by a gradual but steady decline in MAP. Phase3: Immediately following HAR, MAP recovery was sustained in both groups. There was no difference in CVP at any time interval and no differences in the total of vasopressor agents used. A band of gray shaded area represents time from PV reperfusion to HAR. Error bar shows the standard error of mean % MAP. Abbreviations: CVP, central venous pressure; HAR, hepatic artery reperfusion; MAP, mean arterial pressure; PRS, post-reperfusion syndrome; PVR, portal vein reperfusion. ([73] Fukazawa K, Yamada Y, Gologorsky E, Arheart KL, Pretto EA Jr. Hemodynamic recovery following postreperfusion syndrome in liver transplantation. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2014 Aug; 28(4):1006-14)

我々はこの第三段階の肝動脈再灌流後の、血圧上昇に注目し、ドナー危険指数 (DRI) がどのように、この血圧の回復に影響するかを評価した。(Figure 10) 肝動脈再灌流から 30 分間の血圧の回復の傾きと DRI の相関関係を線形回帰分析で解析した。相関関係は以下の数式で示されるように、DRI の数値の増加に伴い、回復の傾きは低下するという結果を得た。

$$\%MAP/min (\text{回復の傾き}) = -0.0009 \times DRI + 0.0023 \quad (p=0.014)$$

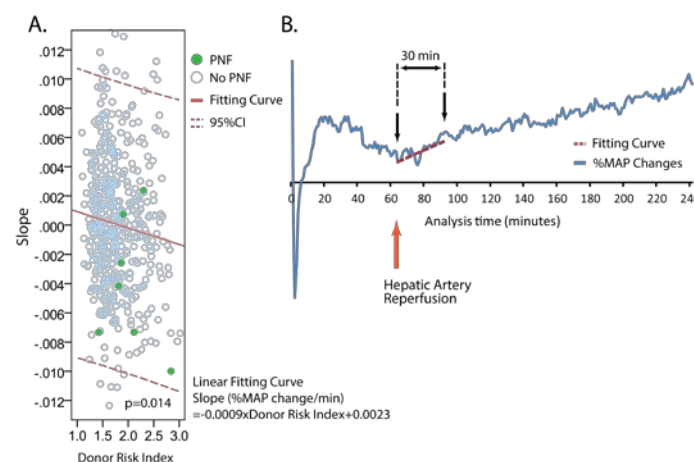


Figure 10. Effect of donor risk index on hemodynamic recovery after hepatic artery reperfusion. Panel A, Significant negative correlation between donor risk index and slope of hemodynamic recovery following hepatic artery reperfusion by linear regression model ($p=0.014$, slope of hemodynamic recovery ($\%MAP/min$) = $-0.0009 \times \text{Donor Risk Index} + 0.0023$). Panel B, Technique used for calculation of slope of hemodynamic recovery. Minute-to-minute MAP values were collected and expressed as relative MAP change ($\%MAP$ change) between HAR and 30 minutes after HAR. *Abbreviations: HAR, hepatic artery reperfusion; MAP, mean arterial pressure; PVR, portal vein reperfusion; PNF, primary non-function.* ([73] Fukazawa K, Yamada Y, Gologorsky E, Arheart KL, Pretto EA Jr. Hemodynamic recovery following post-reperfusion syndrome in liver transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2014 Aug; 28(4):1006-14)

再灌流症候群のあった群となかった群で、各段階ごとに昇圧薬の使用量を比較した。昇圧剤の使用量に差異は見られなかった。(Table 6)

Table. 6 Usage of vasopressors in non-PRS vs. PRS groups during three recovery phases following reperfusion

Bolus		Reperfusion-5min			5min-HAR			HAR-240 min		
		non-PRS	PRS	p value	non-PRS	PRS	p value	non-PRS	PRS	p value
MB	(%)	37%	32%	NS	-	-	-	-	-	-
Calcium	(mg)	289 ± 81	317 ± 74	NS	376 ± 117	264 ± 55	NS	560 ± 155	335 ± 83	0.010*
Ephedrine	(mg)	0.4 ± 0.4	0.3 ± 0.2	NS	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.1	NS	0.3 ± 0.3	0.2 ± 0.2	NS
Epinephrine	(mcg)	5.2 ± 4.0	34.6 ± 17.1	NS	214.6 ± 150.3	27.5 ± 24.7	NS	54.5 ± 37.7	49.2 ± 0.4	NS
Phenylephrine	(mcg)	5.9 ± 5.9	10.1 ± 4.6	NS	9.1 ± 9.1	7.3 ± 7.3	NS	2.7 ± 2.7	1.6 ± 1.6	NS

Infusion		Reperfusion-5min			5min-HAR			HAR-240 min		
		non-PRS	PRS	p value	non-PRS	PRS	p value	non-PRS	PRS	p value
Dopamine	(mcg)	314 ± 84	505 ± 103	NS	5638 ± 1349	8288 ± 1495	NS	19474 ± 4234	26266 ± 4819	NS
		23.5%	32.4%		39.4%	51.0%		43.2%	51.0%	
Epinephrine	(mcg)	147 ± 93	104 ± 59	NS	2488 ± 1599	1777 ± 1025	NS	6034 ± 3769	8025 ± 3482	NS
		7.8%	6.8%		12.1%	9.1%		10.8%	14.8%	
Overall		33.3%	35.1%	NS	45.5%	49.1%	NS	40.5%	44.3%	NS

Data are means ± S.E.M. Percentages in MB row represent the frequency of MB use in both cohorts HAR: hepatic artery reperfusion, MB: methylene blue, PRS: post-reperfusion syndrome. NS: statistically not significant. ([73] Fukazawa K, Yamada Y, Gologorsky E, Arheart KL, Pretto EA Jr. Hemodynamic recovery following post-reperfusion syndrome in liver transplantation. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2014 Aug; 28(4):1006-14)

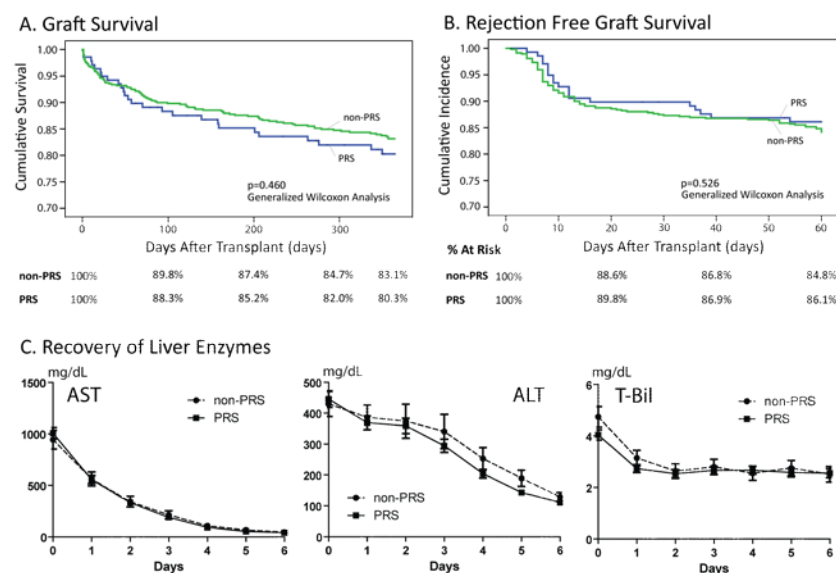


Figure 11. One-year graft survival, rate of rejection-free graft survival, and post-transplant liver enzymes. No difference was noted in 1 year graft survival, freedom from acute rejection within 60 days after transplant and liver enzymes between both groups. ([73] Fukazawa K, Yamada Y, Gologorsky E, Arheart KL, Pretto EA Jr. Hemodynamic recovery following post-reperfusion syndrome in liver transplantation. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2014 Aug; 28(4):1006-14)

再灌流症候群のあった群となかった群で、術後 1 年の移植片の生存率、60 日の拒絶反応の頻度、肝移植後の肝機能値の推移に差異は見られなかった。(Figure 11)

4. 4 考察

虚血再灌流は序論でも論じたように、移植片が初めて被移植者の高濃度酸素を伴った血液に触れる瞬間であり、移植に最も特異的かつ危険な瞬間である。過去には虚血再灌流に伴う循環虚脱の頻度を 100%とする報告もあるほど、高頻度で虚血再灌流症候群は起こってくる。[74] 現在では 10-30%とする報告が多い。[20,75] 今回我々の研究では、31.6%であり、これらの他施設からの報告とほぼ一致している。さらに再灌流後に循環虚脱を起こし回復することなく死亡に至る頻度は、0.3%と非常に低いことから、再灌流症候群から直接死に至ることは非常にまれであるといえる。

再灌流後の循環動態の変化には、三つの特徴的な段階があることが、Figure 1 のグラフから判明した。第 1 段階は、虚血再灌流期で、虚血再灌流症候群の発生はこの時期である。再灌流症候群の危険因子として今回の研究の結果、高齢の臓器提供者からの移植片と低い再灌流前の中心静脈圧を同定した。移植片の再灌流により、移植片内に被移植者の血液が約 18-30mL/100gram 程度、急速に流入し右心系の前負荷が急速に減少することが、再灌流に伴う血圧低下の一因と考えられている。実際経食道心臓エコーを用いた研究でも、不十分な右心房への前負荷が再灌流症候群の一因と結論付けられている。今回の研究結果は、これらの研究結果に沿うものである。一方再灌流症候群の起こった群と起こらなかった群で門脈解放前の中心静脈圧に統計的に有意な差はなかった。これは、中心静脈圧自体が右心前負荷の指標としてあまり敏感な指標でないことや、右心系の前負荷は再灌流に

伴う低血圧の一因に過ぎず、その他、多くの因子(移植片の因子など)の総合的な影響で起こってくると考えられる。今後は、肝移植手術中の適切かつより鋭敏な前負荷の指標の同定や、前負荷の減少を防ぐ方法の開発などの研究が期待される。再灌流症候群が移植片予後に影響が見られなかったことは、再灌流症候群で定義される循環変動(5 分以内に 1 分間持続する、再灌流前の平均血圧から 30%以上の血圧低下)が、細胞および組織レベルでの再灌流症候群をうまく反映していない可能性がある。そもそも Aggarwal の定義による門脈再灌流症候群の頻度は、再灌流前の血圧をどう定義するかに大きく左右される他、Pre-emptive な昇圧剤の使用による影響なども考えられる。かつて Aggarwal らが、1987 年に再灌流症候群の定義を発表した頃は、ピギーバック法やバイパス法の開発される前であり、高い再灌流後心停止を背景に、この定義は臨床的に大きな意味を持っていたと考えられる。しかし次の章で述べるようにフラッシュ法の発達や、移植手術法や管理法の著しい進歩により、今回の研究で判明した様に、再灌流後の心停止は激減している。従って、Aggarwal らの定義に基づく“再灌流症候群”の臨床的な意味合いは薄れてきていると考えられる。今回の研究から、再灌流後の低血圧自体は、被移植者及び移植片の予後への影響は少ないことから、“再灌流後低血圧”と“再灌流後症候群”を分けて考ていく必要性を示唆している。今後は、移植片の予後から“再灌流症候群”の定義を再考してゆくなどの新たな試みが期待される場所である。

一方、ドナー因子が移植再灌流の寄与因子として入っているのは非常に興味深い。このことは、序論の移植コンチナムの第 5 段階で述べたように、循環作動性炎症性物質のドナーからの放出が再灌流症候群の一因であるという基礎研究の結果を臨床的に裏付けていると考察されるからである。第 2 段階のゆっくりとした循環動態の低下は、有効循環血液量の移植片への一時的な急速流入や、再灌流時に投与された昇圧剤の影響では説明がつかない

い。再灌流後に微小循環還流が、低圧系である門脈灌流では十分に得られず、温虚血が一部の肝臓の部位で起こり、虚血障害が増悪し、継続的に循環作動性炎症性物質の放出を引き起こしている可能性がある。

第 3 段階は肝動脈の再灌流後であり、循環系の持続的な回復が、虚血再灌流症候群の有無に関わらず所見される。さらにこの研究では、DRI で表されるドナーの質にこの回復率が相関していることが示され、この点も非常に興味深い。これは低圧系である門脈再灌流により十分に灌流されず、温虚血が遷延していた移植片が、高圧系である肝動脈の開放によって、灌流されるようになったためと推測される。

この研究には、後方視的研究で限界もある。単一施設のため外科的手法や麻酔管理のばらつきが少ない反面、施設、地域に特有の人口統計の情報に偏りがある可能性がある。さらに温虚血時間(<60 分)冷虚血時間(<10 時間)は、一般的に臓器に大きな障害が及ぶとされる温虚血時間 60 分以上や冷虚血時間 12 時間以上に比べ、比較的短くよくコントロールされており、温虚血時間や冷虚血時間の再灌流症候群の発生への寄与度を調べきれていない可能性がある。またこの時期は次章で述べる 2 通りのフラッシュが行われており、フラッシュ法の違いが予後などに影響している可能性がある。こういった点を含めて、再灌流症候群の寄与因子については、今後さらなる研究が必要である。また、肝動脈再灌流後の循環動態の回復率と被移植者や移植片の予後との関連付けについても、今後さらなる研究の余地があると考えられる。

第5章 脳死肝移植における再灌流前の移植片のフラッシュ法の違いによる術後合併症への影響

5.1 序論

肝移植手術中で循環不全に陥る危険が最も高いのが、肝移植片の再灌流である。再灌流は、右心不全、急性肺高血圧、心停止を引き起こすだけでなく、肝移植片の機能予後にも重大な影響を及ぼす。再灌流に伴う循環不全は 1987 年に Aggarwal らにより再灌流症候群として初めて報告された。[4] 彼らは再灌流症候群を、再灌流後 5 分以内で、1 分以上持続する 30%以上の血圧低下を伴う循環不全と定義した。それ以降 30 年余りにわたって再灌流症候群の発生頻度は変わっていない。フラッシュは、肝移植片内に滞留している保存液や炎症性物質の除去を目的として導入され、現在の時点で、最も有効な再灌流症候群の対処法である。フラッシュの方法には何通りかの方法が考案されているが、どの方法が最も効率よく再灌流症候群を減少できるかについての検討はされていない。マイアミ大学では 2通りの方法(1)晶質液を門脈から流したのち門脈を閉鎖し、肝静脈のクランプを外して被移植者の血液で環流する方法(2)門脈の血管鉗子を外し、その後引きつづき、肝静脈の血管鉗子を外して被移植者の血液で環流する方法を使用している。この研究の目的はフラッシュの方法の違いによる再灌流症候群や肝移植片の予後への影響を検討した。

5.2 方法

米国フロリダ州ジャクソン記念病院で、2003 年から 2008 年の間に行われた、脳死肝移植症例の後方視的検討を行った。この期間には二通りのフラッシュ法が両方とも使用されていた。2008 年以降、再灌流後の心停止や術後の肝移植片の機能不全の頻度が、門脈血フラッシュ

ユ・前方還流法が晶質液フラッシュ・後方灌流に比べて高いと想定され、後者がジャクソン記念病院での主要フラッシュ法となった。急性・劇症性肝炎、1 カ月以内の再移植の症例、他の臓器の同時移植(心臓、腎臓、脾臓、小腸)症例は研究対象から除外した。

まず対象患者をフラッシュ・還流方法により門脈血フラッシュ・前方還流法と晶質液フラッシュ・後方灌流法の二群に分けた。還流・フラッシュ法については後に言及した。再灌流による血圧変化は、再灌流から 5 分以内の最も低い血圧を無肝期の平均血圧からの変化として計算した。我々は再灌流症候群を Aggarwal の定義に基づき、再灌流後 5 分以内に起こる 1 分以上持続する 30%以上の血圧低下と定義した。再灌流後に心停止を起こした症例は再灌流症候群に含めた。原発性移植片無機能 (primary graft non-function: PNF) の診断には、米国 United Network for Organ Sharing (UNOS) の定義を利用した。温阻血時間 (warm ischemic time: WIT)は肝移植片を保存用の氷から取り出してから再灌流までの時間と定義した。虚血性胆道病変 (ischemic type biliary lesion: ITBL)は、肝動脈血栓症を伴わない、吻合部とは別の部位の胆道拡張や狭窄と定義し、経皮胆道造影もしくは内視鏡下逆行性胆道鏡により同定した。

ドナーと被移植者の背景因子、術中の輸血量、再灌流後の心停止の頻度、移植片の機能予後は、連続変数は分散分析 (ANOVA)、二項変数はカイ二乗検定を用いて分析した。

PNF や再灌流後の心停止の寄与因子は多変数ロジスティック回帰分析、移植後 30 日の肝移植片の生存率は多変数コックス比例ハザードモデルで解析した。臓器提供者と被移植者の因子の独立性を確認するため、多変数解析では変数減少法を使用した。二群間の比較では、肝移植片の移植後生存率の寄与因子となりうる背景因子の相違による影響を排除するため、プロペンシティー法を用いた。PSmatch2 を使用し、プロペンシティスコア-による背景因子のマッチングには、Nearest Neighboring 及び復元抽出法を用いた。30 日の移植片

生存に寄与する因子として同定した、被移植者の移植前のプロトロンビン時間、Na、及び移植片の温虚血時間からプロペンシティー変数を計算した。2 群間の肝移植片の生存率はカプランマイヤー法及びウィルコクソン分析法を使用した。術後短期の影響を調べるため、術後 30 日の肝移植片の移植後生存率を使用した。一方虚血性胆道病変の発生頻度は、カプランマイヤー法及びログランク分析法を使用した。解析には GraphPad Prism version 5 (GraphPad Software, サンディエゴ、米国)、SPSS(SPSS, シカゴ、米国)、Intercooled STATA version 11.0(STATA, テキサス州、米国)を使用した。患者の特性を Table. 7 にまとめる。

Table 7. Comparison of Background Variables between “Crystalloid flush with backward unclamping (CB)” and “Portal blood flush with forward unclamping (PF)” Groups

Variables	CB				PF				p value
Recipient									
Age	54.2	±	0.6	(313)	53.1	±	0.9	(165)	0.323
Female (%)	107 (34%)			(313)	54 (33%)			(164)	0.892
BSA	1.52	±	0.02	(313)	1.56	±	0.02	(165)	0.133
MELD score	21.9	±	0.4	(293)	21.1	±	0.6	(160)	0.242
Cause of end stage liver disease									
HBV	35 (11%)			(313)	18 (11%)			(165)	0.988
HCV	172 (55%)			(313)	79 (48%)			(165)	0.124
Alcoholic	72 (23%)			(313)	41 (25%)			(165)	0.710
PBC, PSC	3 (1%)			(313)	0 (0%)			(165)	0.305
Autoimmune	9 (3%)			(313)	10 (6%)			(165)	0.137
Cryptogenic	6 (2%)			(313)	0 (0%)			(165)	0.103
Pre-transplant laboratory values									
PT (sec)	18.1	±	0.3	(308)	18.6	±	0.4	(161)	0.310
Fibrinogen (mg/dL)	194.0	±	8.5	(310)	182.7	±	9.9	(102)	0.400
Creatinine (mg/dL)	1.2	±	0.0	(311)	1.4	±	0.1	(163)	0.221
Total bilirubin (mg/dL)	7.6	±	0.5	(311)	8.1	±	0.9	(160)	0.613
Sodium (mEq/L)	136.2	±	0.3	(311)	137	±	1	(163)	0.545
Platelet (x10 ³ cells/mL)	103.9	±	5.2	(310)	95.7	±	4.9	(163)	0.311
Donor									
Age	41.6	±	1.0	(313)	41.8	±	1.4	(165)	0.905
BSA	1.48	±	0.01	(313)	1.51	±	0.02	(165)	0.329
Cold ischemia time (min)	430	±	5	(311)	422	±	7.0	(165)	0.381
Warm ischemia time (min)	39	±	0	(310)	38	±	1.0	(164)	0.271
Donor risk index¶	1.80	±	0.02	(293)	1.78	±	0.03	(158)	0.519
Maximum Sodium (mEq/L)	155.3	±	1.5	(313)	151.4	±	2.2	(165)	0.189

Cause of death-Anoxia	85 (28.8%)	(296)	48 (31.5%)	(153)	0.503
Cause of death-CVA	281 (9.5%)	(296)	14 (9.2%)	(153)	0.915
National share	138 (46.6%)	(296)	67 (43.8%)	(153)	0.569
BSAi	1.00 ± 0.01	(313)	0.99 ± 0.02	(165)	0.528

Data are means ± S.E.M or percentages (%). ¶Donor risk index without height¹², Abbreviations: AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine transaminase; BSA: body surface area; BSA index: ratio of body surface area ($=BSA_{DONOR}/BSA_{RECIPIENT}$)[76]; CB: Crystalloid flush with backward unclamping, HBV, hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; MELD: models for end stage liver disease; PB: Portal blood flush with forward unclamping, PBC: primary biliary cirrhosis; PRS: post-reperfusion syndrome; PSC: primary sclerosing cholangitis; and PT: prothrombin time.

肝移植手技

ABO 血液型の一致した脳死、および心臓死の臓器提供者からの肝移植片をすべての患者に使用した。臓器保存液としてはすべての臓器提供者に UW 保存液を使用した。ピギーバック法がマイアミ大学ジャクソン記念病院における肝移植手術では標準手技である。この研究では、ピギーバック法を用いた肝移植の症例のみを対象とした。

晶質液フラッシュ・後方灌流法

肝移植片は肝静脈吻合中、門脈から 4℃に冷却した 1000mL の生食及びリンゲル液で、250 cmの輸液用延長チューブを用いて、15 分間フラッシュする。(Figure. 12A) フラッシュは移植片の肝下部大静脈のクランプを開放しておこなう。フラッシュが終了したのち、移植片の肝下部大静脈をクランプする。門脈吻合が終了した後、移植片の肝上部大静脈をゆっくり開放すると、被移植者の血液が後方的にドナー肝移植片に流入し、ゆっくりと肝臓の復温が始まる。最後に門脈を開放すると、ドナー移植片は再灌流される。この方法では、フラッシュや肝臓の灌流に伴う出血はない。

門脈血フラッシュ・前方還流法

肝静脈と門脈の吻合後、門脈のクランプを外し、肝移植片を門脈血でフラッシュする。

(Figure. 12B) 肝移植片は門脈血でフラッシュされる。移植片の肝下部大静脈は開放されているため、門脈血は移植片の肝下部大静脈から流出する。その後移植片の肝下部大静脈を閉鎖し、肝上部大静脈のクランプを外して移植片の移植片は再灌流される。この方法は 250-500mL の急激な出血を伴う。いずれの方法でも、バックテーブルで移植片のフラッシュは行っていない。

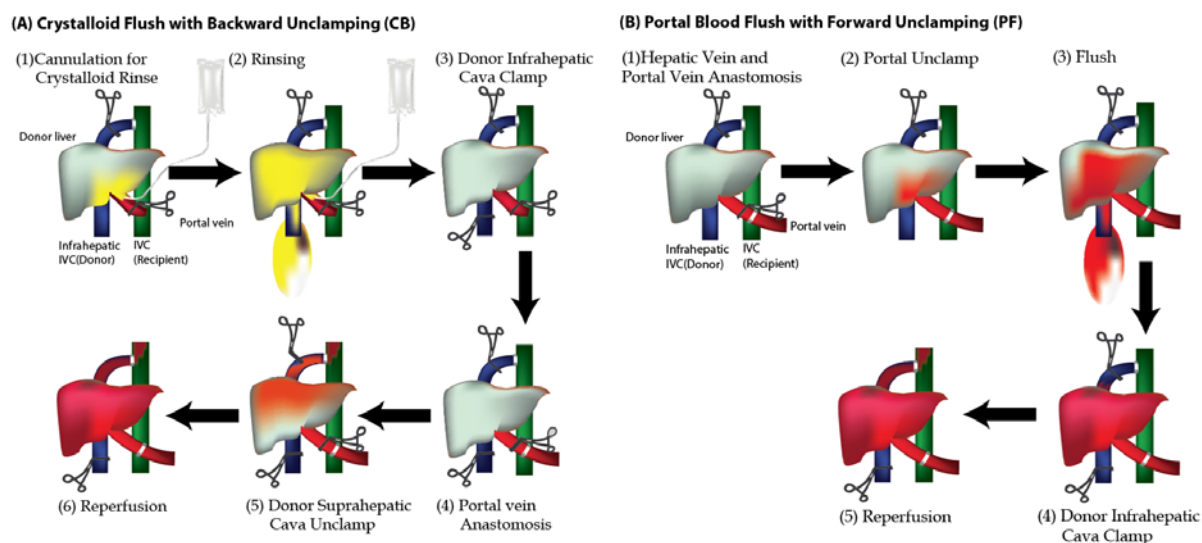


Figure 12 (A) “Crystalloid flush with backward unclamping (CB)” Sequence (B) “Portal blood flush with forward unclamping (PF)” Sequence ([77] Fukazawa K, Nishida S, Hibi T, Pretto EA Jr. Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. Clin Transplant. 2013 Jul-Aug; 27(4):492-502)

5.3 結果

晶質液フラッシュ・後方灌流法は 313 名、門脈血フラッシュ・前方灌流法は 165 名であった。

PRS の頻度(晶質液フラッシュ・後方灌流法 33.6%、門脈血フラッシュ・前方灌流法 41.8%, $p=0.074$)に統計的有意差は見られなかった。再灌流後心停止の頻度 (晶質液フラッシュ・後方灌流法 0.6%、門脈血フラッシュ・前方灌流法 4.9%, $p=0.002$)、原発性移植片機能不

全の頻度（晶質液フラッシュ・後方灌流法 0.6%、門脈血フラッシュ・前方還流法 4.2%,
p==0.006）といずれの頻度も晶質液フラッシュ・後方灌流法の方が有意に低かった。(Table
8)

Table 8. Comparisons of Outcome Variables between “Crystalloid flush with backward unclamping (CB)” and “Portal blood flush with forward unclamping (PF)” Groups

Outcome Variables	CB			PF			p value	
PRS or Cardiac arrest								
PRS (% incidence)	105 (33.6%)		(313)	69 (41.8%)		(165)	0.074	
Cardiac arrest	2 (0.6%)		(313)	8 (4.9%)		(165)	0.002	*
Transfusions								
Before reperfusion								
pRBC (units)	10.5	± 0.7	(313)	10.5	± 1.0	(165)	0.974	
FFP (units)	16.0	± 0.9	(313)	18.6	± 1.4	(165)	0.105	
Platelets (units)	15.6	± 1.0	(313)	13.7	± 1.4	(165)	0.254	
After reperfusion								
pRBC (units)	0.8	± 0.2	(313)	4.2	± 1.1	(165)	<0.001	*
FFP (units)	1.1	± 0.2	(313)	3.8	± 1.0	(165)	<0.001	*
Platelets (units)	1.4	± 0.3	(313)	2.0	± 0.5	(165)	0.316	
Vasopressors								
Before reperfusion								
Epinephrine (mg)	10.7	± 7.0	(313)	7.9	± 3.1	(165)	0.784	
Ephedrine (mg)	3.9	± 0.5	(313)	3.0	± 0.6	(165)	0.254	
Phenylephrine (mg)	68.5	± 11.9	(313)	74.1	± 15.9	(165)	0.784	
Within 5min after reperfusion								
Epinephrine (mg)	1.6	± 0.4	(313)	3.0	± 1.0	(165)	0.143	
Ephedrine (mg)	0.2	± 0.1	(313)	0.0	± 0.0	(165)	0.105	
Phenylephrine (mg)	2.9	± 1.5	(313)	3.1	± 1.9	(165)	0.937	
Until hepatic artery reperfusion								
Epinephrine (mg)	10.5	± 4.7	(313)	15.1	± 7.9	(165)	0.586	
Ephedrine (mg)	1.7	± 0.9	(313)	0.7	± 0.2	(165)	0.429	
Phenylephrine (mg)	10.7	± 2.6	(313)	14.4	± 4.8	(165)	0.469	
Until the end of the case								
Epinephrine (mg)	11.9	± 5.2	(313)	150.3	± 92.1	(165)	0.039	*
Ephedrine (mg)	1.3	± 0.5	(313)	0.6	± 0.4	(165)	0.360	
Phenylephrine (mg)	28.5	± 6.9	(313)	39.7	± 19.2	(165)	0.507	
Postoperative Graft Function								
Primary graft dysfunction	0.6%		(313)	4.2%		(165)	0.006	*

Data are means ± S.E.M. or percentages (%). † Donor risk index without height¹², Abbreviations: AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine transaminase; BSA: body surface area; BSA index: ratio of body surface area (=BSA_{DONOR}/BSA_{RECIPIENT})[76]; CB: Crystalloid flush with backward unclamping, HBV,

hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; MELD: models for end stage liver disease; PB: Portal blood flush with forward unclamping, PBC: primary biliary cirrhosis; PRS: post-reperfusion syndrome; PSC: primary sclerosing cholangitis; and PT: prothrombin time. ([77] Fukazawa K, Nishida S, Hibi T, Pretto EA Jr. Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. Clin Transplant. 2013 Jul-Aug; 27(4):492-502)

移植片の 30 日生存率は、晶質液フラッシュ・後方灌流法の方が有意に高かった。(晶質液フラッシュ・後方灌流法 97.8%、門脈血フラッシュ・前方還流法 91.5%, $p=0.001$). 移植片の 30 日以内の再移植率は、晶質液フラッシュ・後方灌流法の方が有意に低かった。(Figure 13A 晶質液フラッシュ・後方灌流法 1.3%、門脈血フラッシュ・前方還流法 4.4%, $p=0.036$). 移植後の肝機能酵素は、晶質液フラッシュ・後方灌流法の方が有意に低かった。(Figure 13B 晶質液フラッシュ・後方灌流法 97.8%、門脈血フラッシュ・前方還流法 91.5%, $p=0.001$). 移植後のビリルビン値は、漿質液フラッシュ・後方灌流法の方が有意に低かった。(晶質液フラッシュ・後方灌流法 97.8%、門脈血フラッシュ・前方還流法 91.5%, $p=0.001$). 多変量解析の結果、晶質液フラッシュ・後方灌流法は、PNF (相対危険度 0.01、95%信頼限界: 0.000–0.795、 $p=0.039$)、再灌流後心停止 (相対危険度 0.134、95%信頼限界: 0.027–0.664、 $p=0.014$)、および 30 日生存率(相対危険度 0.220、95%信頼限界: 0.086–0.559、 $p=0.001$)を有意に減少させる結果となった。(Table 9) さらに、移植後虚血型胆道病変の頻度は、有意に門脈血フラッシュ・前方還流法グループで高かった。(Figure. 14 晶質液フラッシュ・後方灌流法 1.8%、門脈血フラッシュ・前方還流法 8.6%, $p=0.031$).

Table 9. Independent Risk Factors for PNF, Cardiac Arrest, and 30 day Graft Survival

[PNF]		Final model - Multivariable Analysis								
Variable	Type	RR	95% C.I.	0	1	2	3	Sig.	Overall Sig.	
Flush Technique (CB)	Yes/No	0.010	(0.000-0.795)					0.039	<0.001	
Recipient										
Age at transplant (y)	Continuous	0.921	(0.826-1.026)					0.136		
Na (mEq/L) - Preoperative	Continuous	1.541	(1.143-2.079)					0.005		
Donor										
Donor age (y)	Continuous	1.134	(1.002-1.282)					0.046		
Donor BSA (m²)	Continuous	0.001	(0.000-7.084)					0.123		
Warm ischemia time (min)	Continuous	1.268	(1.028-1.564)					0.026		
Cold ischemia time (min)	Continuous	1.014	(0.998-1.032)					0.095		
[Cardiac Arrest]		Final Model - Multivariable Analysis								
Variable	Type	RR	95% C.I.	0	1	2	3	Sig.	Overall Sig.	
Flush technique (CB)	Yes/No	0.134	(0.027-0.664)					0.014	<0.001	
Recipient										
Serum pH before reperfusion	Continuous	0.001	(0.000-2.822)					0.087		
Donor										
Warm ischemia time (min)	Continuous	1.038	(0.999-1.079)					0.060		
[30day Graft Survival]		Final Model - Multivariable Analysis								
Variable	Type	Hazard	95% C.I.	0	1	2	3	Sig.	Overall Sig.	
Flush technique (CB)	Yes/No	0.220	(0.086-0.559)					0.001	<0.001	
Recipient										
PT (sec) - Preoperative	Continuous	1.135	(1.066-1.208)					<0.001		
Na (mEq/L) - Preoperative	Continuous	1.082	(1.000-1.171)					0.050		
Donor										
Warm ischemia time (min)	Continuous	1.036	(1.017-1.056)					<0.001		

Abbreviations: BSA: body surface area; CB: Crystalloid flush with backward unclamping, MELD: models for end stage liver disease; Na: sodium, and PT: prothrombin time. ([77] Fukazawa K, Nishida S, Hibi T, Pretto EA Jr. Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. Clin Transplant. 2013 Jul-Aug; 27(4):492-502)

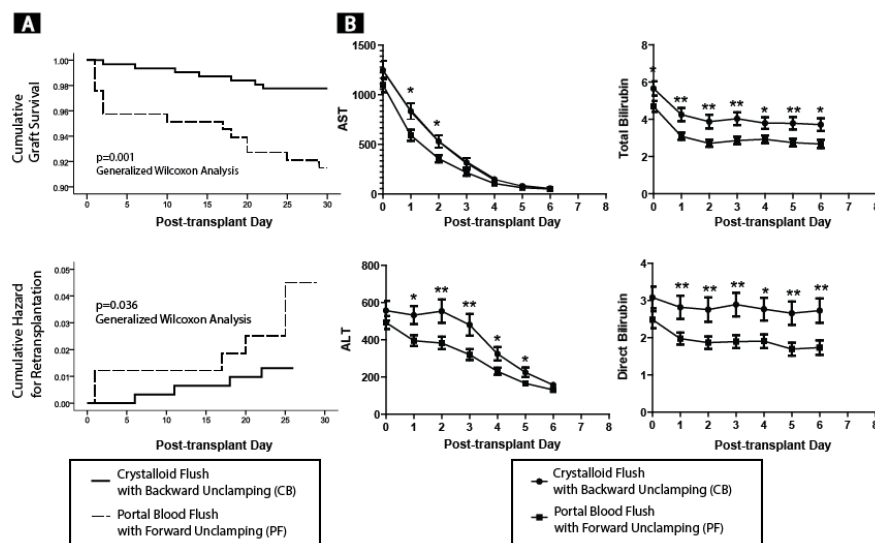


Figure 13 (A) Cumulative Graft Survivals and Hazards for Retransplantation between Crystalloid Flush with Backward Unclamping (CB) and Portal Blood Flush with Forward Unclamping (PF) Shown in Figure 2A (Upper) are Kaplan–Meier estimates for the cumulative probabilities of graft survival between CB and PF. 30 day graft survival was significantly higher in CB compared to PF group (CB 97.8% vs. PF 91.5%, $p=0.001$). Note that there is significant decrease in graft survival immediate postoperative days in PF group. Shown in Figure 2A (Lower) are Kaplan–Meier estimates for the cumulative hazards for retransplantation between CB and PF. Hazard for retransplantation within 30 day was significantly lower in CB compared to PF (CB 1.3% vs. PF 4.4%, $p=0.036$). Note that there is significant increase in hazard for retransplantation immediate postoperative days in PF group. (B) Postoperative Recovery of Liver Enzymes Shown in Figure 2B are post-transplant recoveries of liver enzymes. * $p<0.05$, and ** $p<0.01$. ([77] Fukazawa K, Nishida S, Hibi T, Pretto EA Jr. Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. Clin Transplant. 2013 Jul-Aug; 27(4):492-502)

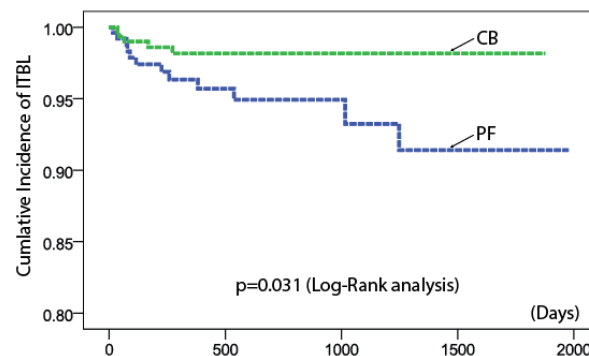


Figure 14 Cumulative Incidence of ischemic type biliary lesion (ITBL) between Crystalloid Flush with Backward Unclamping (CB) and Portal Blood Flush with Forward Unclamping (PF) Shown in Figure 3 are Kaplan–Meier estimates for the cumulative probabilities of ITBL between CB and PF. Cumulative incidence of ITBL was significantly higher in PF compared to CB group (CB 1.8% vs. PF 8.6%, $p=0.031$). ([77] Fukazawa K, Nishida S, Hibi T, Pretto EA Jr. Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. Clin Transplant. 2013 Jul-Aug; 27(4):492-502)

5. 4 考察

序章やさらに前章の研究でもふれたように、虚血再灌流症候群は、肝移植の周術期で最も危険性の高い瞬間である。再灌流症候群を少しでも軽減するため、数々の手法が試されてきたが、再灌流直前の肝移植片のフラッシュを除いては有効性は確立していない。フラッシュ

ユは、低温、かつアシドーシスで、高濃度のカリウムを含む臓器保存液のほか、虚血期間（移植コンチナム第 3-4 段階）に肝の微小循環内に蓄積した、白血球や循環作動性炎症性物質を取り除くことを目的としている。最も有効な虚血再灌流の対策法ということもあり、多くのフラッシュ法が考案されてきた。その中には、門脈先行再灌流、肝動脈先行再灌流、門脈肝動脈同時灌流、後方再灌流法などである。

本研究で比較した二つのフラッシュ法の間では、臨床的な経験に一致して、再灌流後心停止の頻度に大きな差があった。これは、晶質液フラッシュ・後方灌流法がフラッシュの方法としてより効果的であることを意味している。さらに再灌流後心停止だけでなく、術後早期の移植片の生存率や原発性機能不全の頻度に大きな開きがあった。フラッシュが、移植片の予後に影響を及ぼすことは、非常に興味深い。これは移植片の遷延した虚血障害に伴い生じた、白血球や血小板、炎症性物質の蓄積、肝内の微小循環障害が移植片の予後に影響していることを間接的に示している可能性がある。これは、これらの物質の除去および肝微小循環の改善することで移植片の予後を改善できる可能性があると考えられる。晶質液フラッシュ・後方灌流法が他の方法に比べて、晶質液は循環変動が少ないため十分な量のフラッシュ液を使うことができる点で有利である。

Homvises らの報告によると、再灌流後の高カリウム血症を防ぐのには、500mL 以上の血液もしくは晶質液のフラッシュが必要である。[78] 門脈血フラッシュ・前方還流法は、急激な出血が再灌流の直前に起こるため再灌流後心停止だけでなく、原発性移植片機能不全の増加につながっている可能性がある。

そのほか、門脈血フラッシュ・前方還流法では、再加温の時間は、門脈血によるフラッシュの間に限られるため短く、移植片内の均一な復温が難しい。再灌流前に移植片をより高い臓器温度にすることで、肝臓内微小循環の血管抵抗が下がり、序章で述べた No-flow

phenomenon を防いで、より効果的で均一な再灌流が可能になる。さらに、肝内タンパク質分解酵素の活性が低温下では、下がることも、移植片の代謝機能低下の遷延に参与している。武井らの報告によると、8時間、低温のユーロ・コリンズ臓器保存液に浸した臓器は、低温の乳酸加リンゲル液のフラッシュでは、再灌流後3日で肝機能不全に至ったのに対し、加温した乳酸加リンゲル液でフラッシュした移植片は、肝機能不全に陥らなかった。[50] 我々の研究結果は、これらの研究成果に一致し、臨床的に裏付けている点で非常に興味深い点である。

フラッシュに使用する液体の粘調度は、灌流液の血流動態の重要な要素であるが、肝微小循環の灌流の有効性については、結論が出ていない。一般に晶質液は血液に比べ粘調度が高く、粘調度の低い液体による組織灌流は、組織の浮腫の原因になる。この点で臨床的に門脈血フラッシュが優れているとする研究報告も過去にはある。[79-81] その一方、肝微小循環の隅々まで灌流できるという点では、晶質液フラッシュの方が優れているといえる。[82] フラッシュの主たる目的は、肝移植片内の臓器保存液及び微小循環内にたまった不要物の除去であることから、晶質液フラッシュを短時間行うことは、理に適っている。しかしフラッシュ液の粘調度については今後さらなる研究が必要と考えられる。今回研究対象とした、2通りの主なフラッシュ及び再灌流法の違いを以下の表 10 にまとめた。

Table 10. Comparisons of Two Reperfusion Methods

	Crystalloid flush with backward unclamping (CB)	Portal blood flush with forward unclamping (PF)
Amount of flush	1000-2000mL (Unlimited)	250-500mL (Limited by hemodynamic status of recipient)
Speed of flush	250-400ml/min** (Use of high flow tubing or applying high pressure may damage portal endothelium.)	500-1200mL/min* (Affected by the presence of collateral circulation, may significantly reduce in hypovolemia)
Source of flush	Normal saline or Lactate Ringer's	Recipient blood
Temperature of solution	≈4°C	Recipient's body temp (May improve hepatic microcirculation if applied for sufficient time)
Viscosity	Low (May cause hepatocyte swelling?)	Various
Change of Volume Status	Increase volume (Small amount), Slow	Decrease volume (Large amount), Abrupt
Associated hemodynamic change	None	Yes (May require preemptive fluid/transfusion management)
Duration of procedure	10-15min	Immediate (about 30 sec)
Warming of organ	Gradual	Abrupt

*Portal flow of patients with portal hypertension. **Diameter of 3mm, length of 110 cm, IV tubing with luer locks. ([77] Fukazawa K, Nishida S, Hibi T, Pretto EA Jr. Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. Clin Transplant. 2013 Jul-Aug; 27(4):492-502)

第6章 総括と展望

1960 年に Thomas Starzl によって初めて行われた肝移植であったが、被移植者の管理技術、移植片管理や手術手技の目覚ましい進歩により、回復不可能な肝不全の治療として、有効な治療の一選択肢として確立するにいたった。しかし、適応の拡大に伴い、肝移植片の数は、肝移植を必要とする患者に対して圧倒的に少なく、米国の移植待機患者の数は、増加の一方である。この不均衡を少なくするために、市民の移植提供にたいする理解を深める教育、臓器提供希望者になるための数々のリソースへのアクセスを容易にする努力、など移植片の数自体を増やそうとする努力が行われている。残念ながら、このアプローチには限界がある。そこでより機能の高い移植片を得るために、移植片の虚血再灌流障害を防ぐことが、現在の移植医療にとって緊急の課題である。実際、原発性移植片肝機能障害は、虚血再灌流障害が、主な原因の一つであり、高い再移植率を要するが、原発性移植片機能障害を防ぐことで、これらの患者の ICU 入院期間を減らし、またこれに伴う再移植を防ぐことで、年間 50 億円近い医療費を削減できるとする報告もある。[83] さらにこれらの再移植の移植片を他の移植を待つ患者を救うことができるため大きなメリットがある。

今回の研究では、まず虚血再灌流障害の頻度と臨床的な移植片と被移植者の危険因子を調査した。虚血再灌流症候群は、移植技術の進化に伴い、今では頻度が低下してきている。にもかかわらず、死に直結するため、再灌流は肝移植管理中で最も重大な時期であることに変わらない。今回の研究で、移植片の年齢が再灌流症候群の重症度に影響を与えていることを同定した。これは、高齢の移植片からより多くの血管作動性の炎症性物質が放出され、再灌流に影響を与えている可能性を示唆しており、本文でも述べたが非常に興味深い。さらに移植片の DRI(危険度指数)が、肝動脈再灌流後の循環動態の回復に影響を与えて

いることを同定した。この所見も、肝臓から継続的に血管作動性の炎症性物質が放出されていることを示唆している。またフラッシュの方法の相違によって移植片の生存率に有意差が出たことは、移植片内の障害に起因する炎症性物質の産生が、周術期のみならず、長期的作用を持つ可能性を示しており、非常に興味深い。序論で論じた移植のコンチナムの各段階での肝の障害を最小限に抑えることで、より機能性の高い移植片を維持することができる。機能性の高い移植片は、移植後の移植片機能不全やその他の合併症を抑え、その分の移植片を他の移植待機患者に使用できる為、移植片の有効性を高くすることができる。また肝移植術後の集中治療室や病棟の滞在期間を短くできるため、大きな医療費削減を見込むことができる。

今後慢性的な移植片の不足と移植の適応の拡大によって、移植待機患者がより一層増加し、移植片を増やす工夫が強く求められるようになる。移植コンチナムの各段階における細やかな移植片のマネジメントが、これらの状況に重要な役目をする事が期待できる点で、今回の研究の大きな成果である。再灌流後の移植片の障害の程度が被移植者の予後に影響する点は、移植医療に特徴的であり、興味深い。今後は、移植片の有効性を高めるために、各被移植者にあった移植片をどのように見つけていくかという”adaptive allocation system”がポイントになってくると考えられる。移植片と被移植者の相互作用をどのように数値化し、移植片の分配に生かしていくかが今後の課題である。今回の研究は、これらの将来の課題に対する礎となるものである。

第7章 謝辞

はじめに研究当初よりご指導を賜りました東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 生体管理講座麻酔学分野の山田芳嗣教授に感謝申し上げます.

また, 多くのご助言を頂き本研究を終始一貫してサポートしてくださったマイアミ大学医学部麻酔科教授移植麻酔部長のErnesto.A. Pretto医学博士, マイアミ大学公衆衛生科医療統計部教授Christopher A. Arheart公衆衛生博士に感謝申し上げます.

最後に, 研究にご協力いただきましたマイアミ大学ジャクソン記念病院の麻酔科、手術室スタッフの皆様に心より感謝いたします.

1. Feng, S., Goodrich, N.P., Bragg-Gresham, J.L., Dykstra, D.M., Punch, J.D., DeRoy, M.A., Greenstein, S.M. & Merion, R.M. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2006; 6, 783-90.
2. Ploeg, R.J., D'Alessandro, A.M., Knechtle, S.J., Stegall, M.D., Pirsch, J.D., Hoffmann, R.M., Sasaki, T., Sollinger, H.W., Belzer, F.O. & Kalayoglu, M. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation--a multivariate analysis. *Transplantation* 1993; 55, 807-13.
3. Olthoff, K.M., Kulik, L., Samstein, B., Kaminski, M., Abecassis, M., Emond, J., Shaked, A. & Christie, J.D. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2010; 16, 943-9.
4. Aggarwal, S., Kang, Y., Freeman, J.A., Fortunato, F.L. & Pinsky, M.R. Postreperfusion syndrome: cardiovascular collapse following hepatic reperfusion during liver transplantation. *Transplantation proceedings* 1987; 19, 54-5.
5. U.S. Liver Transplants Performed : January 1, 1988 - August 31, 2014. Vol. 2014 (OPTN (Organ Procurement and Transplantation Network), 2014).
6. Belzer, F.O. & Southard, J.H. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45, 673-6.
7. Jamieson, N.V., Sundberg, R., Lindell, S., Claesson, K., Moen, J., Vreugdenhil, P.K., Wight, D.G., Southard, J.H. & Belzer, F.O. Preservation of the canine liver for 24-48 hours using simple cold storage with UW solution. *Transplantation* 1988; 46, 517-22.
8. Denmark, S.W., Shaw, B.W., Jr., Starzl, T.E. & Griffith, B.P. Veno-Venous Bypass without Systemic Anticoagulation in Canine and Human Liver Transplantation. *Surgical forum* 1983; 34, 380-2.
9. Tzakis, A., Todo, S. & Starzl, T.E. Orthotopic liver transplantation with preservation of the inferior vena cava. *Annals of surgery* 1989; 210, 649-52.

10. Malinchoc, M., Kamath, P.S., Gordon, F.D., Peine, C.J., Rank, J. & ter Borg, P.C. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology* 2000; 31, 864-71.
11. Kamath, P.S., Wiesner, R.H., Malinchoc, M., Kremers, W., Therneau, T.M., Kosberg, C.L., D'Amico, G., Dickson, E.R. & Kim, W.R. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001; 33, 464-70.
12. Kamath, P.S., Kim, W.R. & Advanced Liver Disease Study, G. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* 2007; 45, 797-805.
13. Liver Transplant in U.S. Performed : January 1, 1988 - August 31, 2014. Vol. 2014 (OPTN (Organ Procurement and Transplantation Network), 2014).
14. Stewart, Z.A., Locke, J.E., Montgomery, R.A., Singer, A.L., Cameron, A.M. & Segev, D.L. ABO-incompatible deceased donor liver transplantation in the United States: a national registry analysis. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2009; 15, 883-93.
15. Starzl, T.E., Marchioro, T.L., Vonkaulla, K.N., Hermann, G., Brittain, R.S. & Waddell, W.R. Homotransplantation of the Liver in Humans. *Surgery, gynecology & obstetrics* 1963; 117, 659-76.
16. Abouna, G.M., Skillen, A., Hull, C.J., Hodson, A. & Kirkley, J.R. A comparison of the effects of warm ischemia and hypothermia on liver glycogen, electrolytes, pH, and subsequent function during perfusion. *The British journal of surgery* 1969; 56, 382-3.
17. Marino, I.R. & De Luca, G. Orthotopic liver transplantation in pigs. An evaluation of different methods of avoiding the revascularization syndrome. *Transplantation* 1985; 40, 494-8.
18. Chapin, J.W., Wood, R.P., Hurlbert, B.J., Shaw, B.W., Jr., Kennedy, E.M., Cuka, D.J., Markin, R.S., Peters, K.R. & Newland, M.C. Sources of increased serum potassium following reperfusion of liver allografts. *Transplantation proceedings* 1987; 19, 51-3.
19. Acosta, F., Sansano, T., Contreras, R.F., Reche, M., Beltran, R., Roques, V., Rodriguez, M.A., Robles, R., Bueno, F.S., Ramirez, P. & Parrilla, P. Changes in serum potassium during reperfusion in liver transplantation. *Transplantation proceedings* 1999; 31, 2382-3.
20. Nanashima, A., Pillay, P., Crawford, M., Nakasuji, M., Verran, D.J. & Painter, D. Analysis of postrevascularization syndrome after orthotopic liver transplantation: the

- experience of an Australian liver transplantation center. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery* 2001; 8, 557-63.
21. Ramsay, M. The reperfusion syndrome: have we made any progress? *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2008; 14, 412-4.
 22. Tygstrup, N., Winkler, K., Mellemaard, K. & Andreassen, M. Determination of the hepatic arterial blood flow and oxygen supply in man by clamping the hepatic artery during surgery. *The Journal of clinical investigation* 1962; 41, 447-54.
 23. Lauth, W.W. Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: hepatic arterial buffer response. *The American journal of physiology* 1985; 249, G549-56.
 24. Gupta, T.K., Toruner, M., Chung, M.K. & Groszmann, R.J. Endothelial dysfunction and decreased production of nitric oxide in the intrahepatic microcirculation of cirrhotic rats. *Hepatology* 1998; 28, 926-31.
 25. Theodorakis, N.G., Wang, Y.N., Wu, J.M., Maluccio, M.A., Sitzmann, J.V. & Skill, N.J. Role of endothelial nitric oxide synthase in the development of portal hypertension in the carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 2009; 297, G792-9.
 26. Nishida, S., Nakamura, N., Vaidya, A., Levi, D.M., Kato, T., Nery, J.R., Madariaga, J.R., Molina, E., Ruiz, P., Gyamfi, A. & Tzakis, A.G. Piggyback technique in adult orthotopic liver transplantation: an analysis of 1067 liver transplants at a single center. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association* 2006; 8, 182-8.
 27. Pretto, E.A., Jr. Perioperative management of the recipient of the extended criteria cadaveric donor liver (ECDL): a metabolic approach. *International anesthesiology clinics* 2006; 44, 79-96.
 28. Zheng, J., Xiang, J., Zhou, J., Li, Z., Hu, Z., Lo, C.M. & Wang, W. Liver grafts for transplantation from donors with diabetes: an analysis of the Scientific Registry of Transplant Recipients database. *PloS one* 2014; 9, e98104.
 29. McKeown, D.W., Bonser, R.S. & Kellum, J.A. Management of the heartbeating brain-dead organ donor. *British journal of anaesthesia* 2012; 108 Suppl 1, i96-107.
 30. Szabo, G., Hackert, T., Sebening, C., Vahl, C.F. & Hagl, S. Modulation of coronary perfusion pressure can reverse cardiac dysfunction after brain death. *The Annals of thoracic surgery* 1999; 67, 18-25; discussion -6.

31. Semenza, G.L. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *The New England journal of medicine* 2011; 365, 537-47.
32. Murphy, E., Perlman, M., London, R.E. & Steenbergen, C. Amiloride delays the ischemia-induced rise in cytosolic free calcium. *Circulation research* 1991; 68, 1250-8.
33. Karmazyn, M. Amiloride enhances postischemic ventricular recovery: possible role of Na⁺-H⁺ exchange. *The American journal of physiology* 1988; 255, H608-15.
34. Poole-Wilson, P.A., Harding, D.P., Bourdillon, P.D. & Tones, M.A. Calcium out of control. *Journal of molecular and cellular cardiology* 1984; 16, 175-87.
35. Murphy, J.G., Smith, T.W. & Marsh, J.D. Mechanisms of reoxygenation-induced calcium overload in cultured chick embryo heart cells. *The American journal of physiology* 1988; 254, H1133-41.
36. JJ, L. Hypoxic, ischemic, and reperfusion injury to liver. in *Liver Biology and Pathobiology* (eds. Arias IM, Boyer JL & FV, C.) (Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2001).
37. Kayyali, U.S., Donaldson, C., Huang, H., Abdelnour, R. & Hassoun, P.M. Phosphorylation of xanthine dehydrogenase/oxidase in hypoxia. *The Journal of biological chemistry* 2001; 276, 14359-65.
38. Acosta, D. & Li, C.P. Injury to primary cultures of rat heart endothelial cells by hypoxia and glucose deprivation. *In vitro* 1979; 15, 929-34.
39. Ratych, R.E., Chuknyiska, R.S. & Bulkley, G.B. The primary localization of free radical generation after anoxia/reoxygenation in isolated endothelial cells. *Surgery* 1987; 102, 122-31.
40. Kirshenbaum, L.A. & Singal, P.K. Antioxidant changes in heart hypertrophy: significance during hypoxia-reoxygenation injury. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 1992; 70, 1330-5.
41. Murphy, B.J., Robin, E.D., Tapper, D.P., Wong, R.J. & Clayton, D.A. Hypoxic coordinate regulation of mitochondrial enzymes in mammalian cells. *Science* 1984; 223, 707-9.
42. Shlafer, M., Myers, C.L. & Adkins, S. Mitochondrial hydrogen peroxide generation and activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase following global ischemia. *Journal of molecular and cellular cardiology* 1987; 19, 1195-206.
43. Lemasters, J.J. & Thurman, R.G. Reperfusion injury after liver preservation for transplantation. *Annual review of pharmacology and toxicology* 1997; 37, 327-38.

44. Clavien, P.A. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. *Hepatology* 1998; 28, 281-5.
45. McKeown, C.M., Edwards, V., Phillips, M.J., Harvey, P.R., Petrunka, C.N. & Strasberg, S.M. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988; 46, 178-91.
46. Hansen, T.N., Dawson, P.E. & Brockbank, K.G. Effects of hypothermia upon endothelial cells: mechanisms and clinical importance. *Cryobiology* 1994; 31, 101-6.
47. Todo, S., Nery, J., Yanaga, K., Podesta, L., Gordon, R.D. & Starzl, T.E. Extended preservation of human liver grafts with UW solution. *Jama* 1989; 261, 711-4.
48. Maddrey, W.C., Schiff, E.R. & Sorrell, M.F. *Transplantation of the liver*, 251 - 273, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, (2001).
49. Heijnen, B.H., van Veen, S.Q., Straatsburg, I.H. & van Gulik, T.M. Pronounced effect of minor changes in body temperature on ischemia and reperfusion injury in rat liver. *J Appl Physiol (1985)* 2001; 91, 265-8.
50. Takei, Y., Gao, W.S., Hijioka, T., Savier, E., Lindert, K.A., Lemasters, J.J. & Thurman, R.G. Increase in survival of liver grafts after rinsing with warm Ringer's solution due to improvement of hepatic microcirculation. *Transplantation* 1991; 52, 225-30.
51. Rentsch, M., Post, S., Palma, P., Gonzalez, A.P., Menger, M.D. & Messmer, K. Intravital studies on beneficial effects of warm Ringer's lactate rinse in liver transplantation. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 1996; 9, 461-7.
52. Lo, C.M., Fan, S.T., Liu, C.L., Chan, J.K., Lam, B.K., Lau, G.K., Wei, W.I. & Wong, J. Minimum graft size for successful living donor liver transplantation. *Transplantation* 1999; 68, 1112-6.
53. Urata, K., Kawasaki, S., Matsunami, H., Hashikura, Y., Ikegami, T., Ishizone, S., Momose, Y., Komiyama, A. & Makuuchi, M. Calculation of child and adult standard liver volume for liver transplantation. *Hepatology* 1995; 21, 1317-21.
54. Kiuchi, T., Kasahara, M., Uryuhara, K., Inomata, Y., Uemoto, S., Asonuma, K., Egawa, H., Fujita, S., Hayashi, M. & Tanaka, K. Impact of graft size mismatching on graft prognosis in liver transplantation from living donors. *Transplantation* 1999; 67, 321-7.
55. Heaton, N. Small-for-size liver syndrome after auxiliary and split liver transplantation: donor selection. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2003; 9, S26-8.

56. E, D. *Basal Metabolism in Health and Disease.*, Lea & Febiger, Philadelphia, (1936).
57. Fukazawa, K., Nishida, S., Volsky, A., Tzakis, A.G. & Pretto, E.A., Jr. Body surface area index predicts outcome in orthotopic liver transplantation. *Journal of hepatobiliary-pancreatic sciences* 2011; 18, 216-25.
58. Fukazawa, K., Yamada, Y., Nishida, S., Hibi, T., Arheart, K.L. & Pretto, E.A., Jr. Determination of the safe range of graft size mismatch using body surface area index in deceased liver transplantation. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 2013; 26, 724-33.
59. Ito, T., Kiuchi, T., Yamamoto, H., Oike, F., Ogura, Y., Fujimoto, Y., Hirohashi, K. & Tanaka, A.K. Changes in portal venous pressure in the early phase after living donor liver transplantation: pathogenesis and clinical implications. *Transplantation* 2003; 75, 1313-7.
60. Kelly, D.M., Demetris, A.J., Fung, J.J., Marcos, A., Zhu, Y., Subbotin, V., Yin, L., Totsuka, E., Ishii, T., Lee, M.C., Gutierrez, J., Costa, G., Venkataraman, R. & Madariaga, J.R. Porcine partial liver transplantation: a novel model of the "small-for-size" liver graft. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2004; 10, 253-63.
61. Man, K., Lo, C.M., Ng, I.O., Wong, Y.C., Qin, L.F., Fan, S.T. & Wong, J. Liver transplantation in rats using small-for-size grafts: a study of hemodynamic and morphological changes. *Archives of surgery* 2001; 136, 280-5.
62. Monbaliu, D., van Pelt, J., De Vos, R., Greenwood, J., Parkkinen, J., Crabbe, T., Zeegers, M., Vekemans, K., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Fevery, J. & Pirenne, J. Primary graft nonfunction and Kupffer cell activation after liver transplantation from non-heart-beating donors in pigs. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2007; 13, 239-47.
63. Fukumori, T., Ohkohchi, N., Tsukamoto, S. & Satomi, S. The mechanism of injury in a steatotic liver graft during cold preservation. *Transplantation* 1999; 67, 195-200.
64. Selzner, M., Rudiger, H.A., Sindram, D., Madden, J. & Clavien, P.A. Mechanisms of ischemic injury are different in the steatotic and normal rat liver. *Hepatology* 2000; 32, 1280-8.
65. Kiuchi, T., Tanaka, K., Ito, T., Oike, F., Ogura, Y., Fujimoto, Y. & Ogawa, K. Small-for-size graft in living donor liver transplantation: how far should we go? *Liver*

- transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2003; 9, S29-35.
66. Dahm, F., Georgiev, P. & Clavien, P.A. Small-for-size syndrome after partial liver transplantation: definition, mechanisms of disease and clinical implications. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2005; 5, 2605-10.
 67. Bolognesi, M., Sacerdoti, D., Bombonato, G., Merkel, C., Sartori, G., Merenda, R., Nava, V., Angeli, P., Feltracco, P. & Gatta, A. Change in portal flow after liver transplantation: effect on hepatic arterial resistance indices and role of spleen size. *Hepatology* 2002; 35, 601-8.
 68. Vauthey, J.N., Chaoui, A., Do, K.A., Bilimoria, M.M., Fenstermacher, M.J., Charnsangavej, C., Hicks, M., Alsfasser, G., Lauwers, G., Hawkins, I.F. & Caridi, J. Standardized measurement of the future liver remnant prior to extended liver resection: methodology and clinical associations. *Surgery* 2000; 127, 512-9.
 69. Shoup, M., Gonen, M., D'Angelica, M., Jarnagin, W.R., DeMatteo, R.P., Schwartz, L.H., Tuorto, S., Blumgart, L.H. & Fong, Y. Volumetric analysis predicts hepatic dysfunction in patients undergoing major liver resection. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2003; 7, 325-30.
 70. Peng, C.J., Yuan, D., Li, B., Wei, Y.G., Yan, L.N., Wen, T.F., Zhao, J.C., Yang, J.Y., Wang, W.T. & Xu, M.Q. Body mass index evaluating donor hepatic steatosis in living donor liver transplantation. *Transplantation proceedings* 2009; 41, 3556-9.
 71. Kokudo, T., Hasegawa, K., Uldry, E., Matsuyama, Y., Kaneko, J., Akamatsu, N., Aoki, T., Sakamoto, Y., Demartines, N., Sugawara, Y., Kokudo, N. & Halkic, N. A new formula for calculating standard liver volume for living donor liver transplantation without using body weight. *Journal of hepatology* 2015; 63, 848-54.
 72. Leuven, E. & Sianesi, B. PSMATCH2: Stata module to perform full Mahalanobis and propensity score matching, common support graphing, and covariate imbalance testing. (Boston College Department of Economics, Boston College Department of Economics, 2003).
 73. Fukazawa, K., Yamada, Y., Gologorsky, E., Arheart, K.L. & Pretto, E.A., Jr. Hemodynamic recovery following postreperfusion syndrome in liver transplantation. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2014; 28, 1006-14.

74. Hilmi, I., Horton, C.N., Planinsic, R.M., Sakai, T., Nicolau-Raducu, R., Damian, D., Gligor, S. & Marcos, A. The impact of postreperfusion syndrome on short-term patient and liver allograft outcome in patients undergoing orthotopic liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2008; 14, 504-8.
75. Paugam-Burtz, C., Kavafyan, J., Merckx, P., Dahmani, S., Sommacale, D., Ramsay, M., Belghiti, J. & Mantz, J. Postreperfusion syndrome during liver transplantation for cirrhosis: outcome and predictors. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 2009; 15, 522-9.
76. Fukazawa, K., Nishida, S., Volsky, A., Tzakis, A. & Pretto, E.A. Body surface area index predicts outcome in orthotopic liver transplantation. *Journal of hepatobiliary pancreatic sciences* 2010; In press.
77. Fukazawa, K., Nishida, S., Hibi, T. & Pretto, E.A., Jr. Crystalloid flush with backward unclamping may decrease post-reperfusion cardiac arrest and improve short-term graft function when compared to portal blood flush with forward unclamping during liver transplantation. *Clinical transplantation* 2013; 27, 492-502.
78. Homvises, B., Sirivatanauksorn, Y., Limsrichamrern, S., Pongraweewan, O., Sujirattanawimol, K. & Raksakietisak, M. The minimal flush volume for washout of preservation fluid in liver transplantation. *Transplantation proceedings* 2008; 40, 2123-6.
79. Emre, S., Schwartz, M.E., Mor, E., Kishikawa, K., Yagmur, O., Thiese, N., Sheiner, P., Jindal, R.M., Chiodini, S. & Miller, C.M. Obviation of prereperfusion rinsing and decrease in preservation/reperfusion injury in liver transplantation by portal blood flushing. *Transplantation* 1994; 57, 799-803.
80. Gao, W.S., Takei, Y., Marzi, I., Lindert, K.A., Caldwell-Kenkel, J.C., Currin, R.T., Tanaka, Y., Lemasters, J.J. & Thurman, R.G. Carolina rinse solution--a new strategy to increase survival time after orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1991; 52, 417-24.
81. Fukuzawa, K., Schwartz, M.E., Acarli, K., Katz, E., Gabrielson, G., Gettes, M., Jacobs, E. & Miller, C.M. Flushing with autologous blood improves intraoperative hemodynamic stability and early graft function in clinical hepatic transplantation. *J Am Coll Surg* 1994; 178, 541-7.

82. Tojimbara, T., Wicomb, W.N., Garcia-Kennedy, R., Burns, W., Hayashi, M., Collins, G. & Esquivel, C.O. Liver transplantation from non-heart beating donors in rats: influence of viscosity and temperature of initial flushing solutions on graft function. *Liver transplantation and surgery : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 1997; 3, 39-45.
83. Lemasters JJ, Bunzendahl H & RG, T. Preservation of the Liver. in *Transplantation of the Liver* (eds. Maddrey WC, Schiff ER & MF, S.) 251-73 (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001).