

肝臓外科と一酸化窒素 (NO)

—誘導型 NO 合成酵素阻害剤による虚血再灌流障害抑制効果—

桂 卷 正, 磯 部 将 人, 木 村 仁, 永 山 稔, 目 黒 誠,
縫 明 大, 久 木 田 和 磨, 菊 地 仁, 平 田 公 一

札幌医科大学医学部外科学第1講座

Liver Surgery and Nitric Oxide: Inhibition of Ischemia Reperfusion Injury by iNOS Inhibitor

Tadashi KATSURAMAKI, Masato ISOBE, Hitoshi KIMURA, Minoru NAGAYAMA,
Makoto MEGURO, Akihiro NUI, Kazuma KUKITA, Hitoshi KIKUCHI, Koichi HIARATA

First Department of Surgery, Sapporo Medical University School of Medicine

ABSTRACT

Hepatic ischemia reperfusion (I/R) injury is common incident in the liver surgery and liver transplantation. Recently, nitric oxide (NO) has received much attention as a substance related to I/R injury, especially NO from inducible NO synthase (iNOS) which convert to peroxynitrite by reaction with superoxides. We have been examined relationship between NO and hepatic I/R injury using an hepatic warm I/R model in the pig. In this model, we investigated hepatic NO production using a microdialysis method. After reperfusion, iNOS expression appeared in Kupffer cells and neutrophils, and the following findings were recognized; increase of NO production, the formation of thrombocyte thrombi, the expression of peroxynitrite, and apoptosis and necrosis. The frequency of apoptotic cells was very low levels compared with necrotic cells. An iNOS inhibitor significantly attenuated these findings. In the liver transplantation and hepatectomy models, the same results could be obtained. From these observation, the expression of iNOS was the major cause of I/R injury, and the iNOS inhibitor greatly attenuated I/R injury. As a extended study, we tried to develop the new strategies of evaluation of graft of non-heart-beating donors using hepatic microdialysate hypoxanthine levels, and prediction of the viability of the graft was possible. Next, We tried to make an ex vivo functioning liver system using artificial blood in the pig liver, and succeeded 5 hours perfusion with this system.

(Accepted October 7, 2003)

Key words: Liver surgery, Liver transplantation, Nitric oxide, Inducible nitric oxide synthase, Ischemia reperfusion injury, Microdialysis, Non-heart-beating donors

はじめに

肝切除術では術中の出血を少なくするために肝流入血である肝動脈, 門脈を間欠的に遮断しながら肝を離断するが, 少なからず虚血再灌流障害が発生する。一方, 肝移植では冷保存が存在するため, さらに強い虚血再灌流障害が発生し, 場合によってはグラフト肝機能不全が発生する¹⁾。このように肝臓外科において虚血再灌流障害を抑制することは重要な研究テーマである。われわれは肝虚血再灌流障害の発生機序解明, とくに虚血再灌流障害と一酸化窒素 (NO) の関連をテーマに豚を用いた大動物実験を精力的に行ってきた。何故, 豚を用いるかという点, 豚は解剖学的にも免

疫学的にもヒトに近い動物であること, 肝臓移植や肝切除などを行なうことで外科医としての技術習得の訓練になるからである。その後, 研究は心臓死ドナーからのグラフト肝評価法の開発, 常温肝灌流装置の開発へと展開していった。本論文ではわれわれ大動物実験チームの今までの研究成果について述べさせていただき。

1 一酸化窒素 (NO) とは?

一酸化窒素 (NO) は血管内皮細胞由来血管弛緩因子の本体として見いだされ, 循環器の生理的調節作用以外にも種々の臓器において多彩な働きがあることが明らかとなっている²⁾。NOを産生する酵素は生体の恒常性維持に寄与

する構成型 NO 合成酵素 (cNOS) と種々の侵襲によって誘導される誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) に大別することができ, 一般的に cNOS 由来 NO は細胞保護的に作用し, iNOS 由来 NO は細胞障害的に作用すると考えられている. 肝においては内皮型 NOS (eNOS) は通常内皮細胞にのみ発現しており, 肝細胞, Kupffer 細胞ではみられない³⁾. iNOS は肝細胞, Kupffer 細胞よりエンドトキ血症など病的状態にて発現し NO を産生する. iNOS がいったん誘導されると長時間持続して多量の NO が生成されると考えられている.

2 臓器虚血再灌流障害と NO

肝臓移植などの臓器移植では血流を再開すると, 虚血・再灌流障害が発生し¹⁾, 虚血・再灌流障害の発生機序に関しては活性酸素が関与していることが指摘されている⁴⁾. 臓器虚血再灌流障害を防ぐ手段として, この活性酸素を消去もしくは軽減すべく様々な方法が開発されてきた. 一方, NO は不対電子を持つラジカルであることから活性酸素の一種であるスーパーオキシド ($O_2^- \cdot$) と速やかに反応して peroxynitrite に変換され, この peroxynitrite は強い酸化力を持つため極めて強い組織障害性に作用すると考えられている.

われわれは臓器虚血再灌流障害を抑制するためのひとつの方法として再灌流後に発現する iNOS に注目し, それを制御することで再灌流障害を抑制できないか検討することにした.

2・1 肝温阻血再灌流障害と NO

まず比較的簡便な実験モデルである肝温阻血再灌流モデルを作成し, 肝温阻血再灌流における NO の産生動態について検討した. 肝温阻血は肝動脈ならびに門脈をクランプすることで行い, 阻血中は腸管のうっ滞をさけるために脾静脈経由で上腸間膜静脈と左外頸静脈にカテーテルを留置して両者間にバイオポンプを用いた体外循環を作成した. NO の産生は一般にその代謝産物としての NO₂/NO₃ (NO_x) を測定することで行われる. 血清 NO_x 値測定は個体全体の NO 産生を意味するので, 臓器特異的な NO 産生を検討することはできない. われわれは肝での NO 産生を測定するために microdialysis 法という方法を取り入れた⁵⁾. これは肝臓にダイアライシスプローベを挿入し, プローベ内に特殊な灌流液を流すことで 10 分ごとに細胞外液をサンプリングし, 経時的に高速液体クロマトグラフィーで NO_x を測定する方法で, この方法によって肝で産生される NO を直接的に, しかも経時的に測定することが可能となった.

まず肝温阻血再灌流モデルにおける温阻血時間の許容時間を検討した. その結果, 温阻血時間が 120 分までは 100% 生存するが, 180 分になると死亡率は約 50% となり, 体外循環下における温阻血時間は 120 分が限界であることが判明した^{5, 6)}. また, NO の産生動態については, 再

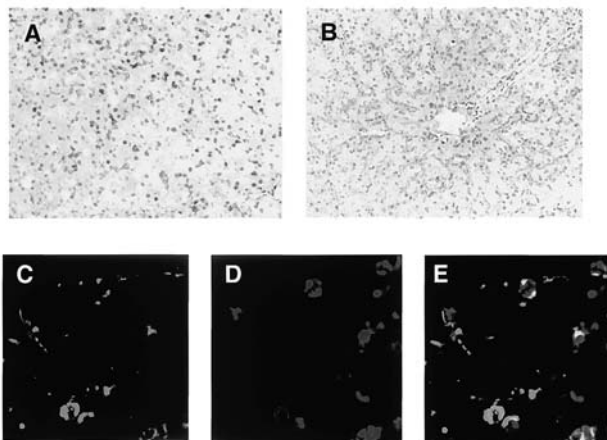


図1 肝虚血再灌流後の iNOS 染色と二重免疫染色

- A: 再灌流前の肝組織. iNOS は発現していない.
 B: 再灌流後 3 時間目の肝組織. Zone 2-3 に iNOS 発現を認めた.
 C-E: iNOS と単球・顆粒球の二重免疫染色.
 (C) iNOS 染色 (Texas red).
 (D) 単球・顆粒球染色 (FITC).
 (E) 両者がほぼ一致しているのが確認できる.

灌流直前 (再灌流 5 分前) の NO_x 値を 100% として再灌流後の NO_x を相対値で検討すると, 再灌流後 3 時間目まで上昇しており, 再灌流後の NO_x 上昇は新たに発生した NO であることが示唆された. さらに iNOS の発現を経時的に免疫染色で検討したところ, 再灌流 1 時間目から iNOS が発現して 3 - 6 時間目にピークに達し, 以後減弱することも判明した (図 1). すなわち, 肝温阻血再灌流では再灌流後に iNOS が発現し, これによって NO が大量に産生されると考えられた. さらに iNOS 発現細胞について二重免疫染色法で検討したところ, iNOS は主に類洞に付着している単球・顆粒球と一致して染色されており, 類洞内の Kupffer 細胞や白血球に発現していると考えられた (図 1). また, 極めて細胞毒性の強い peroxynitrite のマーカーである nitrotyrosine の発現を免疫染色法で検討したところ, iNOS 発現領域を中心に nitrotyrosine が発現しており, これにはほぼ一致して組織学的に肝細胞壊死 (ネクローシス) や類洞内血小板凝集を認めた (図 2).

次に 120 分温阻血モデルにおいて各種 NO 合成酵素阻害剤を投与して, その効果を検討した. cNOS を比較的阻害する N-nitro-L-arginine を投与すると, 阻血・再灌流後の生存率が一気に 20% にまで低下したため, cNOS 由来 NO は細胞保護的作用を持ち, その産生抑制は再灌流障害を増強すると考えられた. 一方, iNOS を比較的阻害する aminoguanidine (AG) を投与したところ, 再灌流後の肝組織 NO_x 産生が抑制され, peroxynitrite 発現抑制, AST 低下, 肝組織血流改善, ネクローシスや類洞内血小板凝集の抑制を認めた^{7, 8)} (図 2). さらに, 死亡率が約 50% でかなり critical な再灌流障害モデルである 180 分温阻血再灌流モデルにおいて iNOS 阻害剤の効果を検討した. この実

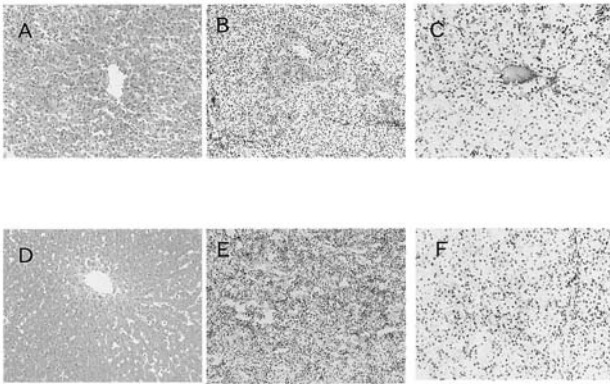


図2 肝温虚血再灌流後の肝組織, nitrotyrosine, 血小板染色
A-C : 対照群: 肝温虚血再灌流3時間目に肝組織に壊死を認め (A), nitrotyrosine (peroxynitrite) の発現 (B), 類洞内血小板凝集を認めた (C).
D-F : iNOS 阻害剤投与群: 再灌流前に iNOS 阻害剤を投与すると肝組織壊死が軽減し (D), nitrotyrosine (peroxynitrite) の発現抑制 (E), 類洞内血小板凝集抑制 (F) を認めた.

験においては新しい iNOS 阻害剤である ONO-1714 (小野薬品工業より提供) を用いた。その結果, ONO-1714 投与によって生存率は 100% に改善し, 血中 NOx, AST, LDH 値はそれぞれ有意に抑制された⁹⁾。以上より肝温阻血再灌流障害において iNOS 阻害剤は再灌流障害を抑制することが判明した。

2・2 肝阻血再灌流障害とアポトーシス・ネクローシス

再灌流障害発生機序に関しては従来より微小循環不全が原因とされ, それによってネクローシスが起るためと考えられてきたが, 最近ではアポトーシスの関与も指摘されている¹⁰⁾。そこで 180 分温阻血再灌流モデルを行って再灌流後のアポトーシス, ネクローシスの同一個体における経時的変動について解析し, 虚血再灌流障害の主体はネクローシスなのか, アポトーシスなのか検討した。その結果, アポトーシスは再灌流後 6hr をピークとして出現し, 再灌流後 24hr まで出現していたが, アポトーシスを起こした細胞は全体の数% にすぎなかった¹¹⁾。一方, ネクローシスは再灌流後 6hr より出現し, 24hr まで経時的に増加し, 全体の約 30% にまで達した。180 分肝温阻血再灌流という critical なモデルにおいては再灌流障害の主体はネクローシスであることが判明した。

2・3 肝移植における虚血再灌流障害と NO

肝温阻血再灌流モデルに比べて, 冷保存を有する肝移植では虚血再灌流障害はさらに著明に出現し, 臨床では約 5% に移植肝が全く機能しない primary non-function (PNF) が発生する。われわれは肝移植においても iNOS を制御することで虚血再灌流障害を抑制できるのか検討することにした。臨床例と全く同じ手技で豚肝移植モデルを作

成し^{12, 13)}, iNOS 阻害剤として AG を再灌流直前に門脈よりグラフト肝に投与した。肝移植においても肝温阻血再灌流実験と同様に類洞内の Kupffer 細胞や白血球に iNOS が発現していた。また, AG 投与によって移植後の組織学的肝障害の軽減を認めた。肝移植でも iNOS 阻害剤によって再灌流障害を抑制することが可能であった¹⁴⁾。

2・4 肝切除術における術後肝障害と NO

臨床における肝切除術では手術中の出血量を抑えるために肝臓に流入する肝動脈・門脈を遮断するなどの工夫で, 現在の肝切除術は 80% 以上の患者で無輸血で手術が施行できる。この肝動脈・門脈の血流を間欠的に遮断する方法をプリングル法と呼び, 通常は 10 - 15 分遮断 5 分間血流再開を繰り返し行い, この程度の血流遮断では肝障害は起こさないとされてきた。しかしながら, 本当にプリングル法による残肝障害が発生しないのか, 十分に解明されていない。そこで豚を用いた肝切除モデルでプリングル法による残肝障害の発生を検討してみた。

まず, プリングル法の安全性を確認するために約 20kg のブタを用いて 15 分クランプ, 5 分開放をプリングル 1 セットとし, 計 8 セット (総遮断時間 120 分) と 12 セット (総遮断時間 180 分) 行い肝障害発生の有無を検討した。その結果, 8 セットでは肝障害はほとんど起こらないが, 12 セットでは肝障害が発生することが判明した。すなわち安全と思われていたプリングル法といえども, 回数が増えると肝障害が発生することが判明した。それでは肝切除を加えると肝障害はどうなるのであろうか。8 セットのプリングル法施行中に左外側区と左内側区の一部を切除して合計で約 25% の肝切除術を行った。この程度の肝切除は術中出血量は極く僅かで肝切除を終了できるので出血による侵襲は無視できる。その結果, 肝切除を加えることで血清 AST, LDH が上昇し, 残肝の肝右葉には術後 12 時間目には約 14% の肝細胞壊死を認め, 好中球浸潤, 類洞内血小板凝集が見られた。また, iNOS, peroxynitrite の発現も見られており, 今までの肝阻血再灌流実験と同様にプリングル法併用肝切除術においても iNOS が発現して肝障害を引き起こすと考えられた。この肝切除モデルにおいて前述の iNOS 阻害剤 ONO - 1714 を投与してみると, 血清 AST, LDH が有意に低下し, 組織学的には肝細胞壊死, 好中球浸潤, 類洞内血小板凝集が抑制され, iNOS, peroxynitrite の発現が減少していた (図 3)。プリングル併用肝切除後においては少なからず残肝障害は発生し, iNOS 阻害剤によって残肝障害を軽減できることが判明した。

以上の一連の実験により肝虚血再灌流障害の一つの機序として, 再灌流後に Kupffer 細胞, 白血球などに iNOS が発現し, iNOS 由来 NO から peroxynitrite が産生され, これが内皮傷害や類洞内血小板凝集を起こして微小循環不全を惹起し, 肝細胞壊死に陥る一連の過程が推察された。そして温阻血再灌流, プリングル法併用肝切除術, 肝移植の

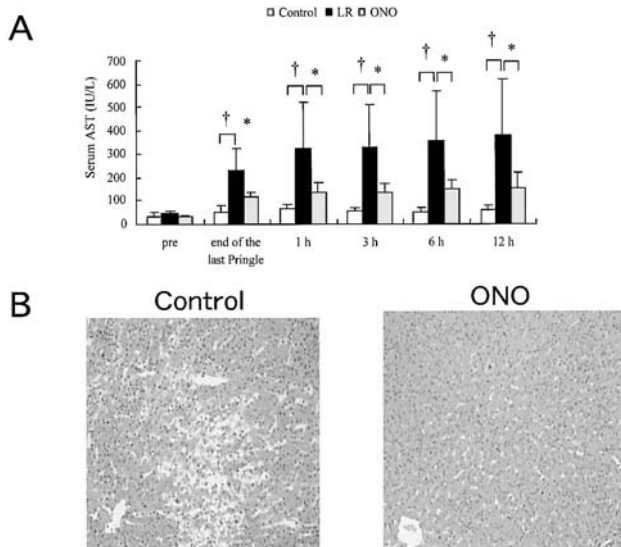


図3 プリングル法併用肝切除術におけるiNOS 阻害剤の効果
 A : iNOS 阻害剤投与によってASTの低下を認めた。
 B : Control 群では肝組織壊死を認めたが, iNOS 阻害剤投与 (ONO1714) によって抑制された。

いずれのモデルにおいても iNOS 阻害剤によって再灌流障害を抑制することが可能であった¹⁵⁾。

3 心臓死ドナーからの移植肝の術前評価法の開発

心臓死ドナーからの肝移植ではグラフト肝が長時間の温阻血に曝されるため, 高率にPNFが発生する¹⁶⁾。しかしながら, PNFに陥るグラフト肝を移植前に判定することは現在の技術では不可能である¹⁷⁾。もしも, 移植前にグラフト肝がPNFになるのか否かが判定できれば, 心臓死ドナーからのグラフト肝でも肝移植が可能となる。前述したように虚血再灌流障害は虚血中にプリン代謝産物が増加し, 再灌流後に酸素が流入することで活性酸素が発生し, これが再灌流障害を引き起こす⁴⁾。そこで温阻血中のプリン代謝産物を測定することで, 移植後のグラフト肝機能が予知できないか考えた。予備実験として肝温阻血再灌流実験モデルにおいて温阻血中のプリン代謝産物 (イノシン, ハイポキサンチン, キサンチン) 濃度をNOx測定法と同じmicrodialysis法にてサンプリングしてリアルタイムに測定し, 再灌流後の肝障害度と関連するのかが検討した。その結果, 温阻血中のプリン代謝産物濃度によって再灌流後の肝障害度が予測できることが判明した^{18, 19)}。次にカリウムを静注することで心停止させ, 30分もしくは60分間の温阻血後に肝を摘出し, 6時間の冷保存後に同所性に移植するブタ心臓死肝移植モデルを作成した。心停止後の温阻血中に同様にmicrodialysis法を用いて肝臓内細胞外液中のプリン代謝物を測定した。その結果, 移植後にPNFに陥るグラフト肝の温阻血中の細胞外液内プリン代謝物濃度は有意に上昇していた。すなわち温阻血中の肝プリン代謝物測定することで移植後の再灌流障害を予測することが可能であ

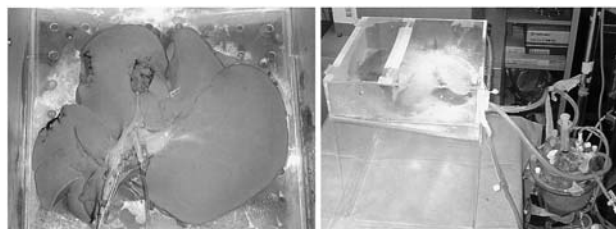


図4 人工血液を用いた常温肝灌流装置

た²⁰⁾。この方法が臨床的に応用することが可能となれば, 肝移植において心臓死ドナーからのグラフト肝を利用することも決して不可能ではないと思われる。

4 人工血液を用いた常温肝灌流装置の開発

近年のバイオテクノロジーの発達により細胞培養は可能となったが, 臓器培養法は開発されていない。われわれは細胞培養と同じコンセプトに立てば, 十分な酸素を臓器内へ供給できるシステムを開発すれば, 細胞培養と同様に臓器培養も可能になるのではないかと考えた。そこで臓器培養法開発の基礎的研究として, 酸素運搬物質として人工血液を使用した特殊な灌流液を作成し, 肝を常温にて体外で機能を維持させる常温肝灌流装置の開発を試みた。灌流液はテルモ社より供給された人工血液 (Neo Red Cell) を用い, 肝細胞用培養液L15などを加えて作成した。豚より肝を摘出し門脈に送血用チューブ, 肝下部大静脈に脱血用チューブを挿入し, 人工肺にて灌流液を酸素化しながら灌流させたところ, 肝における酸素消費, ATP産生, アミノ酸代謝, 肝細胞におけるグリコーゲン蓄積を認めた^{21, 22)} (図4)。このような人工産物による灌流装置によって代謝機能を発揮させながら常温肝灌流に成功したのは世界で初めてである。現在のところ本灌流装置による肝臓の機能維持は5時間を経過すると徐々に低下し, 最大10時間の灌流が限界である。長時間の灌流維持には細胞保護剤の投与, 添加する培養液の組成の変更, 増殖因子の添加, 透析装置の介入などさらなる改良が必要であるが, 臓器培養法が可能となる日を目指して現在, 研究を続けている。

おわりに

以上, われわれの肝臓外科とNOに関する今までの研究成果を述べた。余談であるが, 教室で豚を用いて肝移植の実験を始めたのは1993年からであるが, 本格的には私が留学から帰ってきた翌年の1995年からで, この年にやっと豚肝臓移植を成功させることができた。当時は動物実験室の手術室は移植手術を行う状況になく, 先ず手術室の整理整頓から始めた。豚を飼育する設備もなかったので移植した豚の術後管理に大変難渋した。その後, 動物実験室の御好意で豚飼育室を設けていただき, 実験がスムーズに行えるようになった。現在では種々の講座が豚を用いた大動物実験を行っているようである。われわれの大動物実験研究成

果は全て動物実験室のご協力の賜であることを銘記させていただきたい。

実際に臨床を行っていると解明すべき問題点が数多く存在することに気がつくが、それらはひとつひとつ地道な研究で解決していく必要がある。臨床医が行なった研究成果はできれば臨床で応用され、患者にとって有益であってほしいと願う。これまでの研究成果がいずれは実用化されて医学の発展に寄与できるのであれば、この上ない喜びである。

謝 辞

これまでの実験における組織学的・免疫組織学的検討は、藤沢薬品工業の研究員（現在は退職）でおられた小川利一先生からご指導をいただいた。ほとんど全ての研究成果は小川先生のご指導なくてはありえないものであり、小川先生に深甚の謝意を表す次第である。

本研究は平成 8.9 年度科学研究費補助金基盤研究 C（課題番号 08671462：代表 桂巻 正）、平成 11.12 年度科学研究費補助金基盤研究 B（課題番号 11557094：代表 桂巻 正）、平成 15.16 年度科学研究費基盤研究 C（課題番号 15591420：代表 桂巻 正）、札幌医科大学学術振興会（平成 9 年度、12 年度、14 年度、15 年度）からの研究助成によって行われた。

文 献

- McKeown CM, Edwards V, Phillips MJ, Harvey PR, Petrunka CN, Strasberg SM. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988; 46: 178-191.
- Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 6: 3051-3064.
- 桂巻 正, 平田公一, 木村雅美. 肝疾患と NO. *Surgery frontier* 1995; 3: 53-58.
- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
- Isobe M, Katsuramaki T, Kimura H, Matsuno T, Tarumi K, Yagihashi A, Sasaki K, Hirata K. Correlation between nitric oxide and endothelin after prolonged warm ischemia-reperfusion injury in pig livers. *Transplant Proc* 1998; 30: 3750-3753.
- Katsuramaki T, Isobe M, Kimura H, Nagayama M, Meguro M, Nui A, Matsuno T, Ura H, Mukaiya M and Hirata K. Different changes of endothelin-1 after reperfusion in a warm ischemia/reperfusion and transplantation model in pigs. *Transplant Proc* 2000; 32: 2276-2278.
- Isobe M, Katsuramaki T, Hirata K, Kimura H, Nagayama M, Matsuno T. Beneficial effects of inducible nitric oxide synthase inhibitor on reperfusion injury in the pig liver. *Transplantation* 1999; 68: 803-813.
- Isobe M, Katsuramaki T, Kimura H, Nagayama M, Matsuno T, Yagihashi A, Hirata K. Role of inducible nitric oxide synthase on hepatic ischemia and reperfusion injury. *Transplant Proc* 2000; 32: 1650-1652.
- Meguro M, Katsuramaki T, Nagayama M, Kimura H, Isobe M, Kimura Y, Matsuno T, Nui A, Hirata K. A novel inhibitor of inducible nitric oxid synthase (ONO-1714) prevents critical warm ischemia-reperfusion injury in the pig liver. *Transplantation* 2002; 73: 1439-1446.
- Gao W, Bentley RC, Madden JF. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation. *Hepatology* 1998; 27: 1652-1660.
- Meguro M, Katsuramaki T, Kimura H, Isobe M, Nagayama M, Kukita K, Nui A, Hirata K. Apoptosis and necrosis after warm ischemia-reperfusion injury of the pig liver and their inhibition by ONO-1714. *Transplantation* 2003; 75: 703-710.
- Katsuramaki T, Matsuno T, Hirata K, Isobe M, Sato F, Tsuruma T, Tarumi K, Yagihashi A. Early detection of graft function using hepatic venous oxygen saturation in pig liver transplantation. *Transplantation* 1997; 64: 360-362.
- 桂巻 正, 平田公一, 永山 稔, 木村 仁, 磯部将人, 松野孝, 古畑智久, 浦 英樹, 向谷充宏 平田公一. VCS クリップを用いた簡便な肝動脈吻合法—豚同所性肝移植における検討. *日本消化器外科学会雑誌* 2000; 33: 245-249.
- Kimura H, Katsuramaki T, Isobe M, Nagayama N, Meguro M, Kukita K, Nui A, Hirata K. The role of inducible nitric oxide synthase in pig liver transplantation. *J Surg Res* 2003; 111: 28-37.
- 永山 稔, 桂巻 正, 磯部将人, 木村 仁, 平田公一. 肝虚血再灌流障害における NO の役割. *低温医学* 2001; 27: 6-11.
- Casavilla A, Ramirez C, Shapiro R, Nghiem D, Miracle K, Bronsther O, Randhawa P. Experience with liver and kidney allografts from non-heart-beating donors. *Transplantation* 1995; 59: 197-203.
- Kakizoe S, Yanaga K, Starzl TE, Demetris AJ. Evaluation of protocol before transplantation and after reperfusion biopsies from human orthotopic liver allografts: considerations of preservation and early immunological injury. *Hepatology* 1990; 11: 932-941.
- 永山 稔, 桂巻 正, 木村 仁, 磯部将人, 目黒 誠, 縫明大, 松野 孝, 古畑智久, 浦 英樹, 秦 史壮, 向谷充宏, 平田公一. プリン代謝動態解析による肝虚血再灌流障害の再灌流前評価法の開発—Microdialysis 法を用いたサンプリング抽出法による解析—. *外科と代謝・栄養* 1999; 33: 265-270.
- Nagayama M, Katsuramaki T, Isobe M, Kimura H, Meguro M, Matsuno T, Nui A, Mukaiya M, Ura H and Hirata K. Changes in hepatic microdialysate uric acid levels in porcine liver ischemia/reperfusion. *Transplant Proc* 2000; 32: 2282-2284.
- Nagayama M, Katsuramaki T, Kimura H, Isobe M,

Meguro M, Matsuno T, Nui A, Hirata K. Prediction of graft viability from non-heart-beating donor pigs using hepatic microdialysate hypoxanthine levels. *J Surg Res* 2002; 107: 210-218.

21. 桂巻 正, 縫明大, 菊地 仁, 久木田和磨, 永山 稔, 目黒 誠, 木村 仁, 平田公一. 人工血液を用いた灌流液による肝常温灌流装置の開発. *人工血液* 2002; 10: 42-46.
22. Nui A, Katsuramaki T, Nagayama M, Meguro M, Kimura H, Isobe M, Hirata K. Successful ex vivo normothermic

liver perfusion with purely artificial products using artificial blood. *Int J Artif Organs* 2003; 26: 46-52..

別刷請求先:

〒060-8543 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学医学部外科学第1講座 桂巻 正
TEL : 011 - 611 - 2111 (内線 3281)
E-mail : katsuram@sapmed.ac.jp