

日本医療研究開発機構 官民による若手研究者発掘支援事業 事後評価報告書



I 基本情報

補助事業課題名：（日本語）ドナー肺の長期灌流と無襲侵評価が可能な体外肺灌流システムの研究
（プログラム名）（英語）Study of an ex-vivo lung perfusion system for long preservation and noninvasive evaluation of donor lungs

実施期間：令和2年9月1日～令和4年3月31日

補助事業担当者 氏名：（日本語）小阪 亮
（英語）Ryo Kosaka

補助事業担当者 所属機関・部署・役職：
（日本語）産業技術総合研究所・健康医工学研究部門 上級主任研究員
（英語）National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)・Health and Medical Research Institute・
Chief Senior Researcher

II 補助事業の概要

補助事業の成果およびその意義等

和文：2 ページ以上

英文：1 ページ程度

補助事業の成果およびその意義(和文)

重症肺疾患患者に対し、脳死患者や心停止後のドナー肺を移植する肺移植が実施されている。しかし、国内では、2018年の肺移植数は58例と慢性的なドナー不足である。米国では2018年の肺移植は年間2,562例にもなるが、ドナー肺の保存時間の制限や機能不全により、臓器活用率は約20%に過ぎない。そのため、ドナー肺を移植前にレシピエントに移植した状態と同等に保ちながら、ドナー肺の「保存」と「評価」を行う体外肺灌流(Ex Vivo Lung Perfusion: EVLP)が注目されている。EVLPの導入により肺の保存時間の延長とマージナルドナー肺の活用により肺の臓器活用率の改善に繋がる。しかし、臨床でのEVLPによる肺の機能評価は、肺の酸素化能や気道内圧、肺の触診等、複数の基準があるものの、熟練した医師が、これらを総合的に考慮して移植の可否を判断している。しかし、レシピエントに移植した肺が機能不全肺であった場合、術後の死亡や重度術後合併症などが問題となる。また、移植肺の長期保存法についても、EVLPを使用することで冷却保存に比べると灌流時間は長くなったが、移植肺の保存時間がより延長できれば、移植センターへの患者の到着時間や移植臓器の到着時間が合致せずに移植不可となっていた症例の移植実現に有効となり、

約 20%に過ぎない臓器活用率の向上に繋がるうえ、将来的には米国から日本への臓器の国際搬送にも繋がる可能性がある。本課題では、申請者が有する人工心臓の計測・制御技術を活用し、EVLP を用いたドナー肺の無侵襲機能評価技術と保存技術を開発し、次世代 EVLP の製品化に向けたコンセプトを明確化させることを目的とした。

EVLP の研究プラットフォームとして、ベンチレータと血液ポンプ、人工肺などから構成される EVLP 回路と、気道内圧や気流量、血圧や血流量などの生理情報を計測可能な EVLP 計測システム、人工心臓の自動制御が可能な EVLP 制御システムを開発した。ドナー肺の無侵襲機能評価技術として、サーモグラフィーとハイパースペクトルを用いた評価法と、肺重量の持続計測による評価法を開発した。サーモグラフィカメラを用いた肺機能の評価法では、肺水腫が生じやすい肺を設置しているオーガンチャンバ下面側がサーモグラフィーで撮影できるよう可視光と近赤外光を透過する特殊樹脂をオーガンチャンバ下面に設置した。そして、灌流初期から体温まで復温する際の肺の熱画像をサーモグラフィカメラで連続的に撮影し、撮影された肺の熱画像変化をもとに、肺機能の評価する。肺水腫が生じやすい肺の傷害部位は、肺の末梢循環の血管抵抗が高いことが想定されるため、肺の復温が正常部位と比べて遅いことが想定された。ハイパースペクトルイメージングカメラを用いた肺機能評価法では、波長 650nm と 800nm の画像から酸素飽和度イメージを作成し、各肺葉の血ガス装置で計測された酸素分圧 () と比較した。肺の傷害部位では、正常部位に比べて、肺の酸素化能が悪化し、酸素飽和度の低下が想定された。肺重量の持続計測技術による評価では、肺水腫により増加する肺重量から肺機能の評価する。肺重量の変化は、肺を設置しているオーガンチャンバ下面に取り付けたロードセルで計測された重量変化から推定する。ドナー肺の保存技術として、EVLP の灌流条件の自動制御技術を開発した。本制御システムは、PID 制御 (Proportional-Integral-Differential Controller) により、灌流条件 (肺動脈圧、灌流量、温度など) を自動制御する。本システムを用い、灌流装置中の血液ポンプを自動制御することで、肺機能低下の原因である肺動脈圧の上昇で生じる肺水腫を抑制させる制御法を開発した。

開発した EVLP におけるドナー肺の評価技術と制御技術を評価するため、45kg のブタを用いた動物実験の評価系を開発した。動物実験では、脳死ドナーを想定した Control 群と心停止後臓器提供を想定した DCD (Donation after Circulatory Death) 群のモデルを準備した。Control 群では心停止後、最小限の冷虚血時間で灌流を実施した。DCD 群では肺に傷害を与えるため、肺に 1 時間あるいは 1.5 時間の温虚血時間と 5 時間の冷虚血時間を与えて灌流を実施した。灌流のプロトコルは、灌流液に赤血球が加えられ、左心房が解放された Lund 式 EVLP のプロトコルに従い、灌流液を 37°C に向けて復温しつつ、灌流開始 10 分で回路内のシャントを閉鎖した。そして、肺のみに灌流液を流入させ、最終的な流量を推定心拍出量の 100% とした。灌流開始後、1 時間と 2 時間で血ガスによる肺機能評価を実施した。そして、2 時間の EVLP が終了した後、肺の移植適合性を評価するため、肺の重さと血液ガス分析値の変化、肺組織含水度などを評価した。

灌流試験後、肺の移植適合性を評価した結果、Control 群は全て移植適合で、DCD 群 (1.5 時間の温虚血時間) はすべて移植不適合、DCD 群 (1 時間の温虚血時間) は 4 例が移植適合で 1 例が移植不適合であった。移植適合群と移植不適合群を比較した結果、移植適合群は移植不適合群と比べて、動脈血酸素分圧と吸入酸素濃度の比である P/F 比の有意な増加、最大気道内圧の有意な増加、肺重量の有意な低下、シャント比の有意な低下、肺水腫を反映する Wet/Dry 比の有意な低下が得られた ($P < 0.001$)。サーモグラフィカメラを用いて下葉背面の肺表面温度分布を計測した結果、移植適合群では移植不適合群と比べて、灌流初期の肺表面温度の温度上昇度が高いことがわかった。灌流初期の下葉の肺表面温度の平均値を比較した結果、シャント閉鎖後 8 分で、移植適合群の肺表面温度は、移植不適合群の肺表面温度よりも有意に高かった ($P < 0.001$)。ROC (Receiver Operating Characteristic analysis) 解析の結果、移植適合群の肺表面温度のカットオフ値は 26°C であった (AUC [Area Under the Curve] = 1.0)。シャント閉鎖後 8 分の肺表面温度が 26°C よりも高い群と低い群を比較した結果、8 分の肺表面温度が高い群は低い群と比べて、P/F 比が有意に高く、最大

気道内圧、肺重量変化、シャント比が有意に低かった（全て $P < 0.05$ ）。しかし、他の時間では有意な差は観察されなかった。また、灌流8分の肺表面温度分布と、対応する部位の肺水腫の指標である2時間のWet/Dry比を比較した結果、有意な負の相関があった（ $R = -0.752$, $P < 0.001$ ）。ハイパースペクトルイメージングシステムを用いて、下葉背面の酸素飽和度分布を評価した結果、移植適合群と比較して、移植不適合群では酸素飽和度が低下している領域が観察された。下葉背面の平均酸素飽和度は、吸入酸素濃度比 $FiO_2 = 1.0$ において PO_2 と高い相関が得られた（ $R = 0.855$ ）。また、下葉を3分割して移植適合群と移植不適合群の酸素飽和度を比較した結果、いずれの部位も移植適合群で有意に酸素飽和度が高いことがわかった。EVLP中に肺重量の持続計測を実施した結果、2時間後の肺重量増加量は、試験後にバックテーブル上で測定された肺重量増加量と有意な相関があった（ $R = 0.979$, $P < 0.01$ ）。移植不適合群の灌流開始40分後の肺重量増加量は、移植適合群と比べて有意に高かった（ $P < 0.01$, Cut-off = +12 g, AUC = 0.907）。40分後の肺重量増加は、2時間後のP/F比、最大気道内圧、シャント比、Wet/Dry比が移植適合性と有意に相関した（ $P < 0.05$ ）。EVLPの灌流条件の制御技術の評価した結果、肺動脈圧が上限である20 mmHgを超える場合、血液ポンプの回転数が自動制御され、肺動脈圧の上昇を抑制することができた。

サポート機関と連携して、製品コンセプトの検討を実施した。具体的には、以下の検討を実施した。①ニーズ探索のため、臨床現場の課題を明確化するためのニーズステートメントを作成することで、「どういった臨床現場の課題の」、「どのような疾患を有する患者に」、「どのような結果を導くか」を明文化した。②ニーズのランク付けを行うため、要素ごとに、Must-haveとNice-to-haveの仕様を設定するニーズクライテリアを検討した。ニーズクライテリアをまとめた結果、コンセプト設計に繋がる開発機器の必須の仕様とあれば良い仕様をまとめることができた。③製品コンセプトを明らかとするため、競合技術とのギャップ分析を実施した。ギャップ分析の結果、開発機器が他の技術よりも優位性を得るための仕様を明らかにすることができた。④薬事戦略として、FDAにおけるEVLPの承認情報をもとに国内での薬事戦略を検討し、治験の要否や医療機器のクラス分類などを想定することができた。⑤特許戦略として、EVLPの既存の特許情報を調査し、開発機器の知財性を検討することができた。⑥開発機器のリスク評価として、技術的実現可能性・知財・医療機器承認・保険収載・ビジネスモデルの項目について分析し、事業化に至るまでの課題を明らかにした。⑦サポート機関の専門家の個別面談を通じて、開発機器の事業化のシナリオについて、意見交換を行い、現状で最も実現性のある事業戦略を得ることができた。また、臨床ニーズを得るため、医師と意見交換を行い、日本での臨床現場でのニーズ、価格、適用数、承認申請に向けた戦略、臨床医がほしい仕様など、具体的な話を聞くことができた。最後に、開発機器に関してピッチ（Medtec Academy Pitch Day）を実施した。これらのサポート機関の支援により、事業戦略のシナリオと製品コンセプトを明らかにすることができ、研究開発から承認申請、事業化までのロードマップを作成することができた。

補助事業の成果およびその意義 (英文)

Lung transplantation is an established treatment for advanced pulmonary disease. In spite of the use of marginal donors and donation after circulatory death (DCD) donors as well as aggressive organ donor management, the utilization of donor lungs is still limited to 20% in the USA. Ex vivo lung perfusion (EVLP) is an emerging technique applied to donor lungs outside of the body before transplantation and preserves and evaluates lung function. However, there is no established protocol in EVLP to identify transplantable lungs. The purpose of the project is to develop EVLP system for a non-invasive evaluation and preservation of donor lungs and evaluate in animal experiments using a porcine model.

We developed an EVLP system having an EVLP circuit, a measurement system, and a control system as a research platform for EVLP study. For non-invasive evaluation of donor lungs, thermal images of the lower lobes were continuously monitored using an infrared thermography. Oxygen saturation imaging was performed using a near-infrared hyperspectral imaging camera to quantitatively assess the regional gas exchange potential of the lower lobes. In addition, real-time lung weight gain was measured by loadcells positioned at the bottom of the organ chamber. For a preservation of donor lungs, we developed a feedback control system for EVLP. This control system automatically controlled perfusion conditions.

To evaluate the developed EVLP system, we performed animal experiments using 45 kg pigs. Fifteen pigs were randomly allocated to three groups: a control group or DCD groups with 60 or 90 min of warm ischemia ($n = 5$, each). In the control group, EVLP was performed after 1 h of cold ischemia. In the DCD group, following 60 or 90 min of warm ischemia, lungs were stored on ice for 5 h, and then EVLP was performed. The perfusion protocol followed the Lund-type EVLP protocol. Pulmonary function was assessed by blood gas at 1 and 2 hours after the start of perfusion. At 2 h, transplant suitability was determined. As a result, lungs in all cases in the control group and in four cases in the DCD group with 60 min of warm ischemia were judged as transplantable. In contrast, lungs in the remaining six cases were judged as non-transplantable.

As a result of thermal images of lower lobes, at 8 min, lung surface temperatures of non-suitable cases were significantly lower than those in suitable cases ($P < 0.001$, cut-off = 26°C). A lung surface temperature of $< 26^{\circ}\text{C}$ was significantly correlated with poor pulmonary function and transplant non-suitability. For the evaluation using a hyperspectral imaging camera, non-suitable cases were associated with lower oxygen saturation and higher wet/dry ratio than suitable cases ($P < 0.01$). For the evaluation of lung weight measurement, lung weight gain in non-suitable cases was significantly higher than that in suitable cases at 40 min ($P < 0.01$, cut-off = +12 g). For the evaluation of control method, when the pulmonary artery pressure was reached the upper limit of 20 mmHg, the rotational speed of the blood pump was automatically controlled to reduce the pulmonary artery pressure.

Finally, in collaboration with supporting team with our project, a product concept of EVLP was conducted. Specifically, the following studies were conducted. (i) For needs exploration of EVLP, a needs statement was created to clarify the issues in the clinical field. (ii) We examined the needs criteria including the “must-have” and “nice-to-have” specifications for each element. (iii) In order to clarify the product concept, a gap analysis with competing technologies was conducted. (iv) As a regulatory strategy, the regulatory strategy based on the approval information of EVLP by FDA was investigated. (v) As a patent strategy, we investigated the existing patent of EVLP. (vi) As a risk assessment, we analyzed the risks of technical feasibility, intellectual property, medical device approval, insurance coverage, and business model. (vii) Through interview of experts, we exchanged opinions with venture capitalists on each scenario of commercialization. To obtain clinical needs, we exchanged opinions with medical surgeon, and were able to obtain valuable information on clinical needs in Japan. (viii) Finally, we had a presentation in a pitch event (Medtec Academy Pitch Day). With the assistance of these supports, we were able to clarify the business strategy scenario and product concept and create a roadmap for approval and commercialization.