

肝移植後の graft viability に対する donor の 絶食の影響に関する実験的検討

順天堂大学医学部第1外科

佐藤 浩一 野崎 浩 榊原 宣

肝移植後の graft viability を donor の絶食期間と donor 肝の単純浸漬冷却保存時間 cold ischemic time (CIT) の面より検討した。肝移植後3時間の胆汁排泄量は、絶食期間が48時間以上になると、CIT の延長するほど低値を示した。また30日生存率は絶食期間48時間、CIT 6時間、絶食期間72時間、CIT 1、6時間で0%と、Euro-Collins solution の安全域とされる CIT 6時間でも極めて不良であった。肝 ATP は絶食期間72時間で有意に低値を、肝 ADP と energy charge は絶食期間48、72時間で有意に低値を示し、これらは CIT の延長とともにより低下した。電顕による観察では、絶食期間48時間以上で細胞質の空胞化、類洞内に bleb が認められ、CIT が6時間では類洞内皮細胞の変性、脱落が認められた。以上より donor の48時間絶食では CIT が延長すると、また72時間絶食では CIT が短時間でも、肝移植後の graft viability を低下させ、移植成績を不良とする原因となりうる事が示唆された。

Key words: orthotopic liver transplantation, donor starvation, cold ischemic time, primary graft nonfunction

結 言

Starzl¹⁾が肝移植にはじめて成功して以来、移植技術の進歩に加えて、Cyclosporin A²⁾に代表される免疫抑制剤の発見や Euro-Collins solution³⁾などの保存液の進歩により肝移植成績は向上した。さらに近年、UW solution⁴⁾の開発により臓器保存時間は飛躍的に延長し、1年生存率は70~80%⁵⁾と、いまや肝移植は末期肝疾患に対する普遍的な治療法になりつつある。しかしこうした移植学の進歩にもかかわらず、移植直後より graft が全く作用しない状態、すなわち primary graft nonfunction (PGN) の発生率は2.1~38.5%^{6)~10)}と依然高率である。また一度 PGN が発生すると、再移植されないかぎり、その死亡率は80%と高率⁹⁾である。PGN の成因については、donor の肝疾患、organ procurement の際の肝虚血、donor 肝の不十分な flush、肝保存時の障害、再灌流時の障害、超急性拒絶反応、移植手技の問題^{9)11)~15)}などがあげられているが、肝移植後の graft viability に関与していると考えられる。donor の術前の絶食の影響については十分な検討がなされていない。そこで donor の術前の絶食期間の面よ

り肝移植成績を検討した。

対象と方法

1. 対象

体重200~250g の Wistar 系雄性 rat を donor および recipient として用いた。

2. 方法

(1) Group 分類

Donor の術前の絶食期間および摘出肝の単純浸漬冷却保存期間 cold ischemic time (CIT) により、以下の6群に分類した。

Group 1 : 絶食なし, CIT 1時間 (h)

Group 2 : 絶食なし, CIT 6h

Group 3 : 絶食48h, CIT 1h

Group 4 : 絶食48h, CIT 6h

Group 5 : 絶食72h, CIT 1h

Group 6 : 絶食72h, CIT 6h

(2) 保存液

保存液としては4℃、Euro-Collins solution (ミドリ十字社製) を用いた。

(3) 手術方法

同所性肝移植は Kamada ら¹⁶⁾の cuff 法に基づいて行った。すなわち、肝上部下大静脈の吻合は7-0 prolene を用い、連続縫合で行い、門脈および肝下部下

<1993年9月8日受理> 別刷請求先: 佐藤 浩一

〒113 文京区本郷2-1-1 順天堂大学医学部第1外科

大静脈の吻合は cuff technique で行った。なお肝動脈の再建は行わず、胆管はステントチューブ挿入により端々に吻合した。

(4) 検討項目

① 同所性肝移植後3時間の胆汁排泄量 (n=5)

移植肝の血流再開直後3時間の胆汁排泄量 (ml) を測定した。胆汁採取は胆管にあらかじめ留置してあるステントチューブにビニールチューブを接続し、体外に誘導された胆汁を回収することにより施行した。

② 同所性肝移植後の生存率 (n=5)

各 Group について同所性肝移植後30日目までの生存率を検討した。

③ 肝単純浸漬冷却保存時の肝 ATP, ADP, AMP および adenylate energy charge の変化 (n=5)

肝単純浸漬冷却保存時の肝組織内 ATP, ADP, AMP および adenylate energy charge の絶食期間 0, 48 および 72 時間における経時の変化を, CIT 0, 1, 3 および 6 時間についてそれぞれ検討した。肝組織内 ATP, ADP および AMP の測定はベーリンガー・マンハイム社製測定キットを用いて行った。すなわち、凍結した肝組織を液体窒素下で粉砕し、解凍しないように素早く 500mg を秤量、ただちに氷冷 0.5N 過塩素酸 10 倍量を加え、内刃回転式ホモジナイザーにて 1~2 分破碎。氷上 10 分間静置後、3,000rpm, 30min, 4℃ で遠心分離し、上清 1ml に 1M K₂CO₃, 250~260μl を添加し、pH 6~7 に調整した。この精製液を測定キットを用い分析し、ATP, ADP および AMP 量を算定した。なお adenylate energy charge は以下の式¹⁷⁾を用いて計算した。

Adenylate energy charge =

$$\frac{(ATP + 0.5 \times ADP)}{(ATP + ADP + AMP)}$$

$$\frac{(ATP + ADP + AMP)}{(ATP + ADP + AMP)}$$

④ 肝単純浸漬冷却保存時の肝重量の変化 (n=5)

肝単純浸漬冷却保存時の肝重量の絶食期間 0, 48 および 72 時間における経時の変化を, CIT 1, 3 および 6 時間についてそれぞれ検討した。

⑤ 肝単純浸漬冷却保存時の保存液中の GPT, および LDH の変化 (n=5)

肝単純浸漬冷却保存時の保存液中の GPT および LDH の絶食期間 0, 48 および 72 時間における経時の変化を, CIT 1, 3 および 6 時間についてそれぞれ検討した。

⑥ 電顕による病理組織学的検索

各 Group について電顕による病理組織学的検索を

施行した。すなわち、検体を採取後直ちにグルタルアルデヒド (pH 7.2 リン酸緩衝液) で 2 時間固定した後、2% オスミウム酸 (pH 7.2 リン酸緩衝液) でさらに 2 時間固定した。つぎに上昇エタノール系列で脱水し、EPOK 812 で包埋した。包埋したブロックはマイクロトーム (MT-5000) で薄切し、酢酸ウラニールで 10 分間染色後、鉛で 4 分間染色 (SATO 変法) した。標本の観察は透過型電顕 JEM-1200EX を用い、加速電圧 80 KV で行った。

(5) 統計処理

生存率は Kaplan-Meier 法を用い、Wilcoxon 法で検定し、平均値の差の検定は多重比較 (Bonferroni's method) を用い、危険率 5% 以下を有意差ありとした。

成績

① 同所性肝移植後3時間の胆汁排泄量

肝移植直後3時間の胆汁排泄量は Group 1, 2, 3 でそれぞれ 0.47, 0.43, 0.43ml と良好であった。これに対して Group 4, 5 ではそれぞれ 0.34, 0.29ml と有意に低下し、とくに Group 6 では胆汁排泄は全く認められず、PGN の状態を示した (Fig. 1)。

② 同所性肝移植後の生存率

同所性肝移植後30日目までの生存率は Group 1, 3 で 100%, Group 2 で 80% と良好であったのに対して、Group 4, 6 では 24 時間以内に全例死亡し、生存率は 0% であった。また、Group 5 では術後 2 日目より死亡例がみられ 28 日以内に全例死亡し、やはり肝移植後 30 日目までの生存率は 0% と、長期生存は得られなかった (Fig. 2)。

③ 肝単純浸漬冷却保存時の肝 ATP, ADP, AMP

Fig. 1 Bile output during 3 hours after liver transplantation

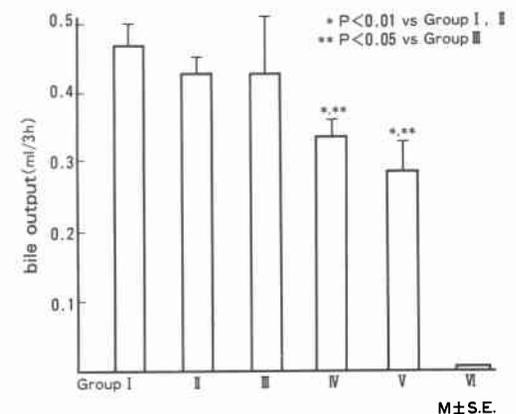


Fig. 2 Survival rate after liver transplantation

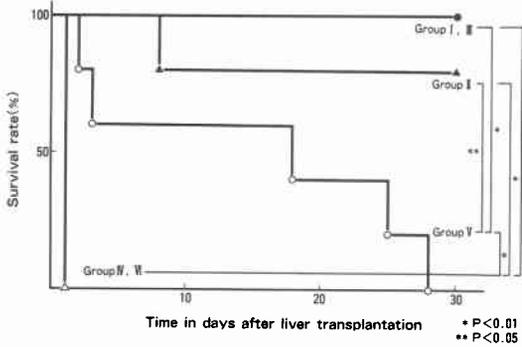


Table 1 Change of ATP in liver tissue during cold preservation

Stava-tion CIT	0h	48h	72h
0h	0.405±0.069	0.294±0.024	0.256±0.010
1h	0.314±0.030	0.241±0.020	0.223±0.009*
3h	0.291±0.032	0.262±0.018	0.195±0.017
6h	0.340±0.045	0.254±0.013	0.207±0.014*

M±S.E. μmol/g
*P<0.05 compared with starvation 0h

Table 2 Change of ADP in liver tissue during cold preservation

Stava-tion CIT	0h	48h	72h
0h	1.285±0.066	1.352±0.134	1.120±0.018
1h	1.212±0.033	0.752±0.015*	0.748±0.021*
3h	1.161±0.031	0.698±0.028*	0.688±0.022*
6h	0.787±0.034	0.509±0.016*	0.561±0.041*

M±S.E. μmol/g
*P<0.01 compared with starvation 0h

および adenylyate energy charge の変化

肝単純浸漬冷却保存時の肝 ATP は、絶食期間72時間で有意に低値を示した。すなわち、Group 5, 6において肝 ATP が有意に低下していた (Table 1)。

また肝 ADP は絶食期間48および72時間で有意に低値を示した。すなわち、Group 3, 4, 5, 6において肝 ADP が有意に低下していた (Table 2)。

これに対して肝 AMP は絶食期間48および72時間で有意に高値を示した。すなわち、Group 3, 4, 5, 6において肝 AMP が有意に増加していた (Table 3)。

Table 3 Change of AMP in liver tissue during cold preservation

Stava-tion CIT	0h	48h	72h
0h	5.182±0.448	5.784±0.799	7.416±0.625
1h	5.086±0.761	8.765±0.377*	8.964±0.353*
3h	5.066±0.405	8.715±0.353*	8.697±0.232*
6h	6.770±0.344	9.741±0.254*	9.684±0.494*

M±S.E. μmol/g
*P<0.01 compared with starvation 0h

Table 4 Change of adenylyate energy charge in liver tissue during cold preservation

Stava-tion CIT	0h	48h	72h
0h	0.148±0.012	0.140±0.026	0.095±0.010
1h	0.142±0.012	0.064±0.004*	0.061±0.004*
3h	0.132±0.008	0.064±0.004*	0.057±0.003*
6h	0.087±0.006	0.048±0.003*	0.047±0.005*

M±S.E.
*P<0.01 compared with starvation 0h

以上より計算式に従って、肝 adenylyate energy charge を求めると、絶食期間48および72時間で有意に低値を示した。すなわち、Group 3, 4, 5, 6において肝 adenylyate energy charge が有意に低下していた (Table 4)。

④ 肝単純浸漬冷却保存時の肝重量の変化

肝単純浸漬冷却保存時の肝重量の増加量は、絶食期間48および72時間で CIT が長くなると低値を示す傾向が認められた。すなわち、Group 4, 6において肝重量が増加する傾向が認められた (Fig. 3)。なお肝単純浸漬冷却保存直前、すなわち CIT 0 時間での肝重量は、絶食期間 0 時間の 14.7±0.72g に対して、48, 72 時間ではそれぞれ 9.4±0.24, 8.7±0.31g と有意に減少していた。

⑤ 肝単純浸漬冷却保存時の保存液中の GPT および LDH の変化

肝単純浸漬冷却保存時の保存液中の GPT は、絶食期間48および72時間で有意に低値を示した。また LDH は、絶食期間72h で有意に低値を示した。すなわち GPT は Group 3, 4, 5, 6 で、LDH は Group 5, 6 で有意に低値を示していた (Fig. 4)。

⑥ 電顕による病理組織学的検索

Group 1, 3では肝細胞の核、および細胞質の小器官

Fig. 3 Change of liver weight during cold preservation

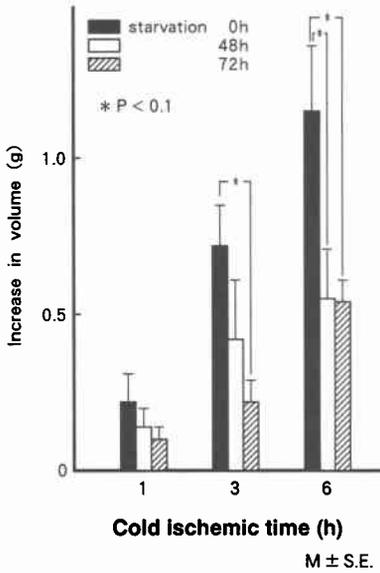
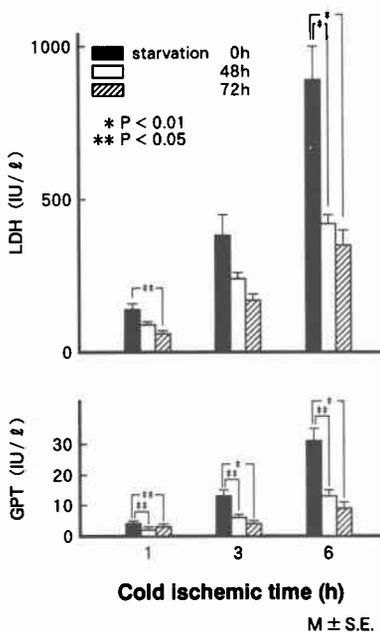


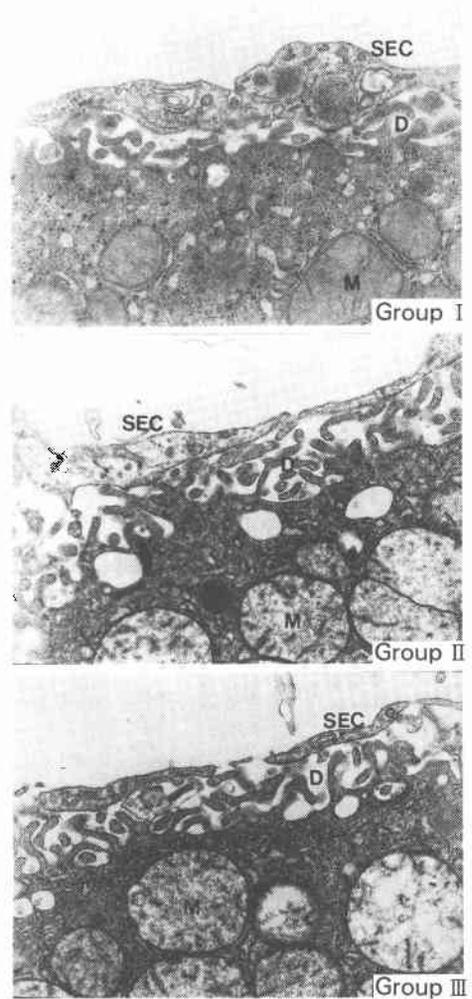
Fig. 4 Change of GPT and LDH in preservation solution during cold preservation



の構築はよく保たれていた。類洞内皮細胞, sinusoidal lining cell, Disse 腔および肝細胞の microvilli も正常であった。Group 2でも肝細胞の構築はよく保たれていた。類洞内皮細胞, sinusoidal lining cell も一部で

Fig. 5 Electron micrograph findings (1) ($\times 15,000$)

M: mitochondria, D: Disse space, SEC: sinusoidal endothelial cell

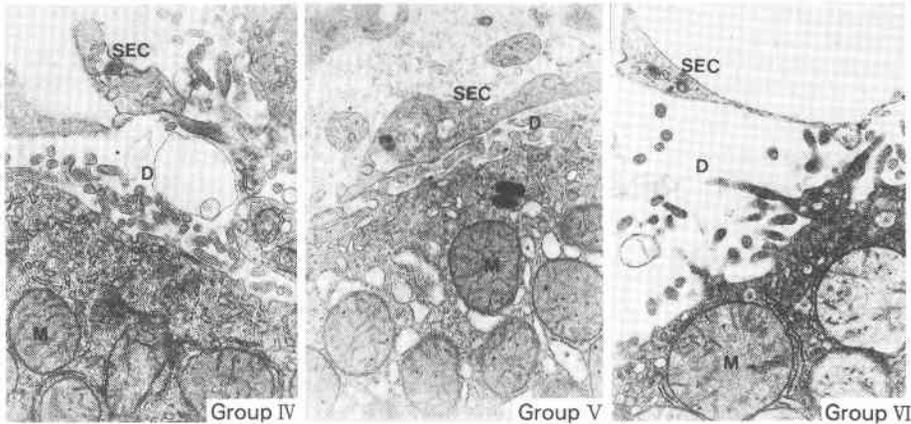


障害が認められるものの、ほぼ正常に保たれていた (Fig. 5)。Group 5では肝細胞質内に空胞が多数認められた。類洞内には bleb が認められたが、類洞内皮細胞の脱落はみられず、sinusoidal lining cell は比較的保たれていた。Group 4, 6では肝細胞質内に多数の空胞が認められた。類洞内皮細胞の変性, 脱落, Disse 腔の開大, microvilli の fragmentation が認められた (Fig. 6)。

考 察

移植学の進歩により肝移植成績は向上し、いまや肝移植は末期肝疾患に対する普遍的な治療法になりつつ

Fig. 6 Electron micrograph findings (2) ($\times 15,000$)
 M: mitochondria, D: Disse space, SEC: sinusoidal endothelial cell



ある。しかし、primary graft nonfunction (PGN) の発生率は依然高率であり、移植肝の生着を妨げる原因の1つとなっている。PGNは肝移植直後より胆汁排泄量が少ない、血清 transaminase や bilirubin の著明な上昇、重篤な凝固障害や低血糖、高カリウム血症、代謝性アシドーシス、乏尿性腎不全、肝性脳症など⁹⁾の重篤な病態であり、再移植されないかぎり、死亡率はきわめて高率で、その予防が切望されている。PGNの成因については、いろいろな報告がみられるが、donor肝の viability に関与していると考えられる donorの術前の絶食状態と、PGNに関する報告は少なく、十分な検討がなされていない。そこで、donorの術前の絶食期間の面より肝移植後の graft viability について検討した。

同所性肝移植成績を検討するにあたって、donorの絶食期間0、48、72時間と単純浸漬冷却保存時間1、6時間により対象を6群に分類した。すなわち、移植後のATP合成には glycogen が不可欠であり、ATPが欠乏すると、移植直後の free radical による再灌流障害を予防するのに必要な、glutathione などの metabolite が不足する。この glycogen は48時間の絶食により絶食前の1.9~15%まで減少する^{18)~20)}ため、絶食の影響をみるためには十分な期間と考えられた。さらに絶食の影響を確実にするため、72時間の絶食期間についても検討した。また Euro-Collins solution による rat 肝の単純浸漬冷却保存に関して、Okamuraら²¹⁾は1週間生存率は CIT 6時間で100%、CIT 9時間では15.4%、Tamakiら²²⁾は CIT 6時間では全例生

存したのに対して、CIT 18時間では6時間以内に全例死亡したと報告しており、Sankaryら²³⁾は CIT が8時間をこえると生存率が低下し、10時間を越えると生存率は0%であるとしている。また Koizumiら²⁴⁾は scanning electron microscope を用いた研究で、CIT が6時間を越えると sinusoidal endothelial cells が傷害され、CIT 6時間までを Euro-Collins solution の限界としている。以上の data より、CIT 6時間までを Euro-Collins solution による単純浸漬冷却保存の安全限界域とし検討に用いた。また完全な保存安全域として CIT 1時間を用いた。

肝移植後3時間の胆汁排泄量は、Group 1, 2, 3で良好であったのに対して、Group 4, 5では有意に低下し、とくに Group 6では胆汁排泄は全く認められず、PGNの状態を示した。Ratの肝移植後第1病日の胆汁排泄量は0.32ml/100g/hrであり²⁵⁾、肝移植後の胆汁排泄量は第11病日まで増加していくとされている²⁶⁾。著者らの成績において胆汁排泄量がかなり少なかったのは、肝移植直後の成績であるためと考えられた。

肝移植直後3時間の胆汁排泄量は Group 4, 5, 6において有意に低値を示した。一般に Euro-Collins solution による単純浸漬冷却保存後の肝移植における胆汁排泄量は、CIT 4時間で control の81%、8時間で55%、12時間で38%、24時間で13%とされており²⁷⁾、CIT が8時間以上になると著明に減少する。また絶食期間と胆汁排泄量の関係を見ると、CIT が8時間の場合、絶食期間が48時間になると、胆汁排泄量は有意に低下すると報告されている²⁸⁾。Rabbit肝の UW solu-

tionによる単純浸漬冷却保存の報告によると、肝移植後の胆汁排泄量はCITが24時間までは48時間の絶食による影響はないが、CIT 48時間では絶食により有意に低下する²⁰⁾。すなわち、Group 4, 6で胆汁排泄量が低下したのは、絶食期間が48時間以上になると冷却保存の影響を受けやすくなるためと考えられた。さらにGroup 5でも胆汁排泄量が減少していたが、これは絶食期間が72時間になるとCITが短くとも肝障害を受けやすくなるためと考えられた。

同所性肝移植後30日目までの生存率はGroup 1, 3で100%、Group 2で80%と良好であったのに対して、Group 4, 5, 6では0%であった。この成績は胆汁排泄量の成績と相関しており、胆汁排泄量が有意に低下している症例では、長期生存が得られなかった。

そこで、胆汁排泄量および生存率の低下の原因を肝adenine nucleotideの面より検討した。肝単純浸漬冷却保存時の肝ATPは、Group 5, 6において有意に低下していた。また肝adenylate energy chargeはGroup 3, 4, 5, 6において有意に低下していた。肝ATPは肝摘出後に急速に減少する¹⁵⁾が、この減少率は絶食の影響を受ける。Palomboら¹⁹⁾は肝ATPの減少率について、25%dextrose投与群(D群)とsaline投与群(S群;絶食群)とを比較し、CIT 1時間でD群-44%、S群-74%、CIT 4時間でそれぞれ-78%、-93%、CIT 8時間でそれぞれ-85%、-96%と報告している。またenergy chargeはCIT 1時間でD群-22%、S群-44%、CIT 4時間でそれぞれ-44%、-57%、CIT 8時間でそれぞれ-44%、-62%と報告している。すなわち、肝ATPおよびenergy chargeはCITの延長とともに低下し、その低下率は絶食群で高率であり、生存率の低下や胆汁排泄量の減少は、こうした肝viabilityの低下が原因であると考えられた。

また肝AMPはGroup 3, 4, 5, 6において有意に増加していたが、単純浸漬冷却保存中にATPおよびADPがAMPまで分解したためと考えられた。

肝単純浸漬冷却保存時の肝重量の増加量は、絶食期間が長いほど低値を示した。一般にEuro-Collins solutionによる単純浸漬冷却保存では、肝重量は経時的に増加し²¹⁾²³⁾、12時間後では+6%、24時間後では+10.1~14%²⁹⁾³⁰⁾の増加がみられる。絶食と肝重量との関係については一定の見解はないが、Sankaryら²⁸⁾は著者らの成績と同じように、絶食群では肝重量の増加は少なかったとしている。

肝単純浸漬冷却保存時の保存液中のGPTは、絶食

期間48および72時間において有意に低値を示した。またLDHも絶食期間72時間において有意に低値を示した。Morganら³¹⁾も24時間冷保存後の灌流液中のtransaminaseは絶食群で有意に低値であるとしており、絶食により肝のviabilityが低下したため、保存液中へのGPT, LDHの流出が減少したためと考えられた。

電顕による観察において、Group 1, 2, 3では肝細胞および類洞内皮細胞の形態はほぼ保たれていたが、Group 4, 6では肝細胞質内に多数の空胞、類洞内皮細胞の変性、脱落、Disse腔の開大が認められた。一般に冷却保存では、肝細胞よりも類洞内皮細胞が障害を受けやすく³²⁾、Euro-Collins solutionによる8時間の単純浸漬冷却保存により、肝細胞はmicrovilliが腫脹する程度であるのに対して、類洞内皮細胞は変性、脱落する²⁴⁾。Euro-Collins solutionでは6時間までの単純浸漬冷却保存が可能である²¹⁾とされているが、Group 4, 6における移植成績がきわめて不良であったことより、絶食期間が長い場合、6時間の冷却保存は不可能であると考えられた。

またGroup 5では類洞内皮細胞の脱落はみられず、sinusoidal lining cellは比較的保たれていたが、これは冷却保存時間が短いためであると考えられた。しかし、肝細胞のviabilityが低下しているため、細胞質内に多数の空胞、類洞内にblebが認められるなど、相当な肝障害を受けており、長期生存が得られないと考えられた。

文 献

- 1) Starzl TE, Marchioro TL, von Kaulla KN et al: Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 117: 659-676, 1963
- 2) Calne RY, White DJW, Thiru S et al: Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* 2: 1323-1327, 1978
- 3) Collins GM, Bravo-Shugarman M, Terasaki PI: Kidney preservation for transplantation. Initial perfusion and 30 hours' ice storage. *Lancet* 2: 1219-1222, 1969
- 4) Jamieson N, Sundberg R, Lindell S et al: Preservation of the canine liver for 24-48 hrs using simple cold storage with UW solution. *Transplantation* 46: 517-522, 1989
- 5) Stratta RJ, Wood RP, Langnas AN et al: The impact of extended preservation on clinical liver transplantation. *Transplantation* 50: 438-443, 1990

- 6) Isai H, Sheil AGR, McCaughan G et al: Successful reversal of primary graft nonfunction in a liver transplant patient treated with prostaglandin E₁. *Aust N Z J Surg* 62 : 314—316, 1992
- 7) Makowka L, Gordon RD, Todo S et al: Analysis of donor criteria for the prediction of outcome in clinical liver transplantation. *Transplant Proc* 19 : 2378—2382, 1987
- 8) Kennedy EM, Wood RP, Shaw BW Jr: Primary nonfunction. Is there a contribution from the back table bath? *Transplantation* 49 : 739—743, 1990
- 9) Greig PD, Woolf GM, Sinclair SB et al: Treatment of primary liver graft nonfunction with prostaglandin E₁. *Transplantation* 48 : 447—453, 1989
- 10) Vaccanti JP, Lillehei CW, Jenkins RL et al: Liver transplantation in children. The Boston center experience in the first 30 months. *Transplant Proc* 19 : 3261—3266, 1987
- 11) Todo S, Demetris AJ, Makouka L et al: Primary nonfunction of hepatic allograft with preexisting fatty infiltration. *Transplantation* 47 : 903—905, 1989
- 12) Starzl TE, Demetris AJ, Todo S et al: Evidence for hyperacute rejection of human liver grafts: The case of the canary kidneys. *Clin Transplant* 3 : 37—45, 1989
- 13) Cisneros C, Guillen F, Gomes R et al: Analysis of warm ischemia time for predication of primary nonfunction of the hepatic graft. *Transplant Proc* 23 : 1976, 1991
- 14) Greig PD, Woolf GM, Abecassis M et al: Prostaglandin E₁ for primary nonfunction following liver transplantation. *Transplant Proc* 21 : 3360—3361, 1989
- 15) Ohkohchi N, Sakurada M, Endoh T et al: Role of free radicals and energy synthesis on primary graft nonfunction in liver transplantation. *Transplant Proc* 23 : 2416—2419, 1991
- 16) Kamada N, Calne RY: Orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 28 : 47—50, 1979
- 17) Atkinson DE, Walton GM: Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation. Rat liver citrate cleavage enzyme. *J Biol Chem* 242 : 3239—3241, 1967
- 18) Start C, Newsholme EA: The effect of starvation and alloxan-diabetes on the contents of citrate and other metabolic intermediates in rat liver. *Biochem J* 107 : 411—415, 1968
- 19) Palombo JD, Hirschberg Y, Pomposelli JJ et al: Decreased loss of liver adenosine triphosphate during hypothermic preservation in rats pretreated with glucose: Implication for organ donor management. *Gastroenterology* 95 : 1043—1049, 1988
- 20) Boudjema K, Lindell SL, Southard JH et al: The effect of fasting on the quality of liver preservation by simple cold storage. *Transplantation* 50 : 943—948, 1990
- 21) Okamura R, Murase N, Kim DG et al: Fluorometric study of the viability of rat liver grafts after simple cold storage with UW solution versus Euro-Collins. *Transplant Proc* 23 : 1877—1881, 1991
- 22) Tamaki T, Kamada N, Pegg DF: Hypothermic preservation of the rat liver assessed by orthotopic transplantation. *Transplantation* 41 : 396—397, 1986
- 23) Sankary HN, Foster P, Brown E et al: A comparison of Collons and UW solution for cold ischemic preservation of the rat liver. *J Surg Res* 51 : 87—91, 1989
- 24) Koizumi M, Ohkohchi N, Katoh H et al: Preservation and reflow damage in liver transplantation. *Transplant Proc* 21 : 1323—1326, 1989
- 25) Xu HS, Rosenlof LK, Selby JB et al: A simple method for bile duct anastomosis and interval bile collection in the liver-transplanted rat. *J Surg Res* 53 : 520—523, 1992
- 26) Shiffman ML, Carithers RL Jr, Posner MP et al: Recovery of bile secretion following orthotopic liver transplantation. *J Hepatol* 12 : 351—361, 1991
- 27) Marzi I, Zhong Z, Lemasters JJ et al: Evidence that graft survival is not related to parenchymal cell viability in rat liver transplantation. The importance of nonparenchymal cells. *Transplantation* 48 : 463—468, 1989
- 28) Sankary H, Fosten P, Brown E et al: Relevance of the nutritional status of donors in viability of transplanted hepatic allografts. *Transplantation* 54 : 170—172, 1992
- 29) Steffen R, Krom RAF, Ferguson D et al: Comparison of University of Wisconsin (UW) and Eurocollins (EC) preservation solution in a rat liver transplant model. *Transplant Int* 3 : 133—136, 1990
- 30) Sundberg R, Ar'rajab A, Ahren B et al: The functional effects of suppression of hypothermia-induced cells swelling in liver preservation by cold storage. *Cryobiology* 28 :

- 150—158, 1991
- 31) Morgan GR, Sanabria JR, Clavien PA et al : Correlation of donor nutritional status with sinusoidal lining cell viability and liver function in the rat. *Transplantation* 51 : 1176—1183, 1991
- 32) Vasilescu C, Tasca C: Ischemic lesions of hepatocytes and sinusoidal cells during preservation of rat liver for transplantation. *Rom J Morphol Embryol* 37 : 19—23, 1991

Experimental Studies on Relationship Between Donor Starvation and Graft Viability after Liver Transplantation

Koichi Sato, Hiroshi Nozaki and Noburu Sakakibara
First Department of Surgery, Juntendo University School of Medicine

Graft viability after liver transplantation was studied from the aspects of donor fasting period and cold ischemic time (CIT) of liver preservation. Bile output during 3 hours after liver transplantation decreased according to the prolongation of CIT when the fasting period was more than 48 hours. Survival rates up to 30 days were extremely poor: 0% with 48 hours of starvation and 6 hours of CIT, and 72 hours of starvation with both 1 and 6 hours of CIT. However, less than 6 hours of cold preservation in Euro-collins solution seemed to be safe. Liver tissue ATP was significantly lower with 72 hours of starvation, and ADP and adenylate energy charge were also lower with both 48 and 72 hours of starvation. Moreover, these concentrations gradually decreased as CIT was prolonged. Electron micrographic findings showed vacuoles in the parenchymal cells and blebs in the sinusoid with more than 48 hours of starvation. Sinusoidal endothelial cells were degenerated and detached with 6 hours of CIT. In conclusion, it was suggested that 48 hours of starvation and 6 hours of CIT, and 72 hours of starvation and more than 1 hour of CIT decreased graft viability after liver transplantation, and could be associated with poor posttransplant results.

Reprint requests: Koichi Sato First Department of Surgery, Juntendo University School of Medicine
2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 JAPAN
