



Title	A Novel Strategy of Decoy Transfection Against Nuclear Factor- $\kappa$ B in Myocardial Preservation
Author(s)	Sakaguchi, Taichi
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3178636">https://doi.org/10.11501/3178636</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	坂 口 太 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 7 2 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 12 年 9 月 29 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	A Novel Strategy of Decoy Transfection Against Nuclear-Factor-kB in Myocardial Preservation (長時間心保存における転写因子 Nuclear Factor-kB (NFkB) に対するおとり (decoy) 型核酸導入の有用性)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 田 暉  (副査) 教 授 白 倉 良 太    教 授 堀 正 二

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】昨年本邦でもようやく心臓移植が再開されたが、移植医療において臓器保存は拒絶反応と並んで解決すべき大きな問題の一つである。保存液の度重なる改良にもかかわらず、現在心保存時間の安全限界は約 4 時間とされており、これを延長することはドナー確保のためにも重要な課題である。保存後の心筋の再灌流障害の機序の一つとして、炎症性サイトカインや接着分子によって好中球の血管内皮への接着と間質への遊走が促進され、心筋障害を引き起こすことが知られているが、Nuclear Factor-kB (NFkB) はそれらのサイトカインや接着分子の誘導にかかわる重要な転写因子である。NFkB の転写活性は、その結合部位と同配列を持つおとり型核酸 (NFkB decoy oligonucleotides (ODNs)) によって抑制されることが報告されており、保存心に NFkB decoy ODNs を効率良く導入できれば、長時間保存後の心筋再灌流障害が軽減されると考えられる。そこで今回長時間心保存に対する NFkB decoy ODNs 導入の有用性をラット異所性心移植モデルを用いて検討した。

【方法】雄性 Sprague-Dakley ラットの心臓を心筋保護液による心停止下に摘出し、NFkB decoy ODNs (NF 群) または Scrambled decoy ODNs (SD 群) を含む Hemagglutinating Virus of Japan (HVJ) -liposome complex を冠動脈内に注入した後、4℃の Euro-Collins 液に 16 時間保存し、同種同系ラット腹腔内に異所性移植した。1 時間の再灌流の後、移植心の左室に挿入したバルーンを用いて、心拍数 (HR)、左室発生圧 (LVDP)、左室圧発生率 (max dP/dt) を測定し、両群間で比較検討した。さらに血清 Creatine Phosphokinase (CPK) 値、移植心の心筋含水率、好中球接着率、組織中 IL-8 様活性物質および ICAM-1 発現等を評価した。

【成績】16 時間の冷保存中に血管内皮および心筋細胞へ ODNs が導入されることが蛍光染色によって確認された。再灌流後の心機能は、LVDP (NF vs. SD,  $57 \pm 5$  vs.  $21 \pm 9$  mmHg;  $P < 0.05$ )、max dP/dt ( $1225 \pm 154$  vs.  $235 \pm 76$  mmHg/sec;  $P < 0.01$ ) とともに NF 群で有意に高く、血清 CPK 値 ( $3943 \pm 834$  vs.  $7170 \pm 367$  IU/L;  $P < 0.05$ ) は NF 群で有意に低値であった。心筋含水率 ( $78.5 \pm 0.6$  vs.  $80.5 \pm 0.4\%$ ;  $P < 0.05$ )、好中球接着率 ( $9.7 \pm 0.6$  vs.  $14.9 \pm 0.9$  counts/field;  $P < 0.01$ )、組織中 IL-8 様活性物質 ( $1850 \pm 161$  vs.  $2614 \pm 18$  ng/mg tissue;  $P < 0.01$ ) も NF 群で有意に低値であった。血管内皮における ICAM-1 の発現は NF 群で低い傾向にあった。

【総括】 NF $\kappa$ B decoy ODNs を保存心に効果的に導入することにより IL-8 様活性物質/ICAM-1 の発現および好中球の接着が抑制され、長時間保存後の心機能を改善させることが示された。このことより保存心の安全限界の延長のための新しい心保存法として NF $\kappa$ B decoy ODNs 導入の有用性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

心臓移植において心保存時間の安全限界を延長することは、ドナー確保のためにも重要な課題である。心保存において解決すべき重要な問題である移植後の再灌流障害は、血管内皮細胞と好中球の相互作用を契機として惹起され、活性化された好中球によって重篤な心筋障害が引き起こされることが知られている。このため、好中球の接着浸潤を促進する接着分子やサイトカインなどの炎症性メディエーターの血管内皮における発現を抑制することは、再灌流障害を軽減し、移植心機能を改善するために極めて重要であると考えられる。本論文では、これらの炎症性メディエーターの誘導に重要な転写因子である Nuclear factor kappa B (NF $\kappa$ B) に対するおとり型核酸を低温保存中のラット心の血管内皮細胞に導入して NF $\kappa$ B の転写活性を抑制することにより、16時間保存後の移植心機能を改善せたと報告している。低温保存中の心臓に核酸を導入し、再灌流障害を転写レベルで抑制したという報告はこの研究が初めてであり、新しい心保存法としての可能性を示唆するものとして非常に意義深く、学位に値するものとする。