

Title	Attenuation of lung injury in allograft rejection using NF- κ B decoy transfection-novel strategy for use in lung transplantation
Author(s)	大森, 謙一
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46219
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	おおもりけんいち 大森謙一
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19690 号
学位授与年月日	平成 17 年 4 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Attenuation of lung injury in allograft rejection using NF- κ B decoy transfection—novel strategy for use in lung transplantation (NF- κ B デコイ導入による移植肺拒絶時における急性肺傷害の抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉 (副査) 教授 白倉 良太 教授 金田 安史

論文内容の要旨

臨床肺移植は、移植後早期に起こる虚血再灌流傷害、呼吸器感染症、急性拒絶反応などの肺傷害、および慢性期における閉塞性細気管支炎 (OB) および慢性拒絶反応のため、心臓を含む他の臓器移植に比べその治療成績は満足できるものではない。特に、遠隔期における OB 発症の抑制が重要であるが、移植後早期の肺傷害が遠隔期の OB の発症に関与すると考えられている。したがって、移植後早期の肺傷害の抑制は、肺移植の成績向上にとって重要である。

肺移植の動物実験モデルにおいては、allograft の急性拒絶において iNOS の発現と呼気ガス中の NO 濃度の上昇が認められており、iNOS と NO 産生の抑制が急性拒絶反応時の肺傷害を軽減することが考えられる。

近年、さまざまな免疫、炎症反応に関与する核転写因子 NF- κ B の働きが明らかになり、Oligo-deoxynucleotide を用いた NF- κ B の機能の抑制、いわゆる NF- κ B decoy が心・腎の移植実験モデルにおいてさまざまな炎症性サイトカイン、接着因子、iNOS の発現を抑制し臓器保護効果を有することが報告されている。

本研究では、ラット急性肺拒絶モデルにおいて HVJ-Liposome 法により NF- κ B decoy の移植肺への導入を行うことにより、NF- κ B decoy が呼気ガス中の NO 濃度の抑制と移植肺の傷害抑制効果を有するかどうかを明らかにすることを目的とした。

[方法]

ラット急性肺拒絶モデルは、Brown Norway (RT¹ⁿ) から Lewis (RT¹) への同所性左肺移植モデルを用いた。NF- κ B decoy の肺組織への導入は HVJ-liposome NF- κ B decoy complex を付加した PBS で donor 肺を摘出直前に経肺動脈を灌流することにより行った。ドナー肺の保存時間は 1 時間 4℃とした。導入効率判定は、FITC 標識 NF- κ B decoy を用いて導入した移植肺の発色を再灌流後、4 時間、1 日、5 日に確認した。

NF- κ B decoy 導入群 (n=6)、scramble decoy 導入群 (n=5)、PBS 単独群 (n=5) の 3 群において、術後 5 日目に以下の指標により NF- κ B decoy による肺傷害抑制効果の評価を行った。

- 1) 対側肺門部を結紮し FiO₂ 1.0 にて 5 分間換気後に動脈血中酸素分圧を測定した。
- 2) 対側気管支を結紮した後、30 分後に chemiluminescence analyzer (SIVERS NOA270B) を用いて呼気ガス中 NO 濃度を測定した。
- 3) 移植肺の病理組織像を ISHLT の基準 (rejection grade A0-4) により検討し、拒絶反応の程度を評価した。

[成績]

- 1) FITC で標識した NF- κ B decoy の導入後 4 時間では、肺組織全体に蛍光色素の分布を認めた。24 時間後、5 日目では、気道上皮、マクロファージ、血管内皮、肺胞上皮への分布が認められた。
- 2) 動脈血中酸素分圧は、NF- κ B decoy 導入群、scramble decoy、PBS 単独使用群のそれぞれで 197 ± 29 mmHg、 60 ± 18 mmHg、 91 ± 35 mmHg であり、NF- κ B decoy 導入群が有意に高値であった。
- 3) 呼気ガス中 NO 濃度は、NF- κ B decoy 導入群、scramble decoy、PBS 単独使用群のそれぞれで 445 ± 162 ppb、 1305 ± 123 ppb、 1068 ± 243 ppb であり、NF- κ B decoy 群が有意に低値であった。
- 4) rejection grade は、NF- κ B decoy 導入群、scramble decoy、PBS 単独使用群のそれぞれで 1.8 ± 0.3 、 2.8 ± 0.5 、 2.6 ± 0.5 で、NF- κ B decoy 導入群が対照群に比して低い傾向を認めた。

[総括]

- 1) HVJ-Liposome 法により移植肺に NF- κ B decoy の導入を行い、急性拒絶反応時の肺傷害抑制効果を検討した。
- 2) FITC にて標識した NF- κ B decoy は、再灌流後 4 時間、24 時間、5 日目の時点で肺組織内への導入が認められた。
- 3) NF- κ B decoy 導入群ではコントロール群に比して、グラフトの酸素化能が良好であり、呼気ガス中 NO 濃度が低値を示した。病理学的な急性拒絶の程度は軽度であったが低い傾向を認めた。
- 4) 以上より、NF- κ B decoy を介するシグナルの抑制が急性拒絶による肺傷害を抑制しうる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

臨床肺移植の手術成績は、術後 30 日以内の死亡率は 10%、1 年生存率 74%と心臓を含む他の臓器移植に比べその治療成績は満足できるものではない。またその死因の多くは、術後再灌流傷害あるいは急性拒絶反応に関連するものであり、免疫抑制剤使用下においても肺組織障害のコントロールは難しく、従来の免疫抑制療法意外に、肺組織障害を抑制する新しい治療法が必要とされている。NF- κ B はさまざまな炎症性サイトカイン、接着因子の発現に関与する核転写因子であるが、急性拒絶反応時において、NF- κ B の転写活性が増加し、急性拒絶反応時の組織傷害に関与することが示されている。すなわち NF- κ B decoy による NF- κ B の抑制が急性拒絶反応時の肺傷害の軽減につながることを期待される。本研究では、ラット急性肺拒絶モデルにおいて NF- κ B decoy の導入が、移植肺傷害抑制効果を有するかどうか検討した。評価は移植肺の酸素化能、呼気中の NO 濃度、拒絶反応の病理組織学的進行度指標により判定した。NF- κ B decoy 導入群ではコントロール群に比して、グラフトの酸素化能が良好であり、呼気ガス中 NO 濃度が低値を示した。病理学的な急性拒絶の程度は軽度であったが低い傾向を認めた。以上より、移植肺への NF- κ B decoy の導入が急性拒絶による肺傷害を抑制しうる可能性が示唆された。本研究の結果は急性拒絶反応時における NF- κ B 抑制の可能性について検討したものである。抑制効果の判定には、さらにサイトカインの推移、同系モデルの検討など追加実験が必要であるが、新しい治療戦略となりうる可能性について言及した点で非常に意義深く、学位の授与に値すると思われる。