The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Therapeutic Effect of Ribbon-Type Nuclear Factor-κB Decoy Oligonucleotides in a Rat Model of Inflammatory Bowel Disease
Author(s)	尾﨑, 和成
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59785
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【129】

氏　　名	尾　崎　和　成（おざきかずなり）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学　位　記　番　号	第　２５９５５　号
学位授与年月日	平成25年３月25日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学　位　論　文　名	Therapeutic Effect of Ribbon-Type Nuclear Factor- κ B Decoy Oligonucleotides in a Rat Model of Inflammatory Bowel Disease （炎症性腸疾患モデルラットでのNFκBリボン型デコイの炎症抑制効果）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　森下　竜一 （副査） 教　授　金田　安史　　教　授　森　　正樹

論　文　内　容　の　要　旨

〔目　的(Purpose)〕

炎症性腸疾患（IBD）は慢性の難治性疾患であり、近年欧米のみならず本邦でも増加傾向にある。IBDは一般に潰瘍性大腸炎とクローン病の二疾患をさし、その病因は未だ完全には解明されていない。炎症性腸疾患では炎症性サイトカインが消化管炎症に重要な役割を担い、転写調節因子NFκBはそれらの一部の発現調節をしている。NFκBデコイはNFκBの活性を抑制するおとり型核酸であり炎症性疾患の治療への応用が期待される。また既に二本鎖デコイについてはIBDへの効果が報告されているが、配列を改良したリボン型デコイはより長時間の治療効果が期待される。

DSS(dextran sodium sulphate)誘発IBDモデルラットに対し、デコイを注腸投与しその炎症抑制効果につき検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

方法：　DSS誘発IBDモデルラットに対して、day0にデコイ(リボン型デコイ、同スクランブルデコイ、二本鎖デコイ)を超音波造影剤(マイクロバブル)と超音波の併用下で注腸投与した。体重変化、Disease activity index(DAI)、生存率の経時的評価をした。day10に大腸長および腸組織での炎症性サイトカイン(IL-1β、IL-6 および TNF-α)の発現とNFκBの転写因子活性を評価した。

成績：　リボン型デコイの注腸投与は、対照群と比較して、生存率、体重減少・DAI、大腸長の縮小を有意に改善させ、IBDモデルラットの腸管炎症症状に対する抑制効果が示された。また、炎症性サイトカインの発現や転写因子活性の抑制効果も認められた。また、これらの効果は二本鎖デコイでも見られたが、リボン型の方が効果に優れていた。

〔総　括(Conclusion)〕

リボン型デコイは、DSS誘発IBDモデルラットにおいて腸管炎症の抑制効果を有し、本疾患に対する治療薬剤になる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

現在、我が国で炎症性腸疾患は急増しており有効な治療薬の需要は増え続けている。これまで潰瘍性大腸炎に対しては完治に導く内科的治療はなく、対症療法が主体であった。近年、生物学的製剤や免疫調整薬が開発されているが、重篤な副作用の報告もあり、長期の使用に関しては安全性に不安が残る。今回申請者は、DSS(dextran sodium sulphate)誘発炎症性腸炎モデルラットを用い、リボン型Nuclear Factor-κB (NFκB)デコイを経注腸投与しその腸管炎症抑制効果につき検討し、従来型二本鎖NFκBデコイと比較して、腸炎症状の抑制、死亡率の抑制、腸管局所の炎症性サイトカイン発現の抑制、NFκBp50の転写因子活性の抑制等に優れている点を示している。このように、リボン型NFκBデコイが腸管炎症の抑制効果を有すること、さらには二本鎖NFκBデコイよりも腸炎症状抑制効果に優れていたことの解明など、すべて初めて報告されることであり、この研究結果は学位に値すると考える。

【130】

氏　　名	藤　田　知　之（ふじ　た　とも　ゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学　位　記　番　号	第　２５５６１　号
学位授与年月日	平成24年４月20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	Clinical Impact of Combined Transplantation of Autologous Skeletal Myoblasts and Bone Marrow Mononuclear Cells in Patients with Severely Deteriorated Ischemic Cariomyopathy （末期的心不全を呈する虚血性心筋症患者に対する自己骨格筋芽細胞と骨髄単核球を用いた細胞移植の安全性および有用性の検討）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　澤　　芳樹 （副査） 教　授　小室　一成　　教　授　中谷　　敏

論　文　内　容　の　要　旨

〔目的〕自己の細胞を用いた心筋再生療法は、主に急性心筋梗塞を対象に行われてきた。なかでも、randomized trialであるREPAIR-AMIは骨髄単核球の移植によりcoronary flow reserveの増加を示し、そのメカニズムを血管新生促進作用であると推論した。一方、MAGIC trialでは筋芽細胞を用いた虚血性心筋症患者への細胞移植がrandomizedに行われ、心室頻拍の合併症を認め、有意な心収縮能改善は得られなかったが、左室径を減少させ、リモデリング抑制効果を有する可能性が示唆された。そこでわれわれは、筋芽細胞のリモデリング抑制効果と骨髄単核球の血管新生効果を組み合わせることにより、両細胞を用いた細胞移植はその相乗効果により、より強力な心不全治療となり得ると考えた。アニマルモデルでは血管新生が促進され、それぞれ単独の細胞よりも組み合わせたほうがより高い心機能の回復が確認された。そこで今回、虚血性心筋症患者へ筋芽細胞と骨髄単核球を同時に移植し、その治療効果と安全性を検討した。

〔方法〕虚血性心筋症によって末期心不全となりLVAD（左心補助人工心臓）の装着を要する４例(年齢４３～６９歳)を対象に、筋芽細胞と骨髄単核球を同時にinjectionにより対象心筋内に移植した。筋芽細胞は大腿より採取し、Cell Processing Center（CPC）で300x10^{6}個以上になるまで培養され、骨髄単核球は移植当日に腸骨より骨髄を採取し単核球を抽出した（100x10^{6}個以上）。細胞移植後6か月の観察期間を設けた。本臨床研究のPrimary end pointは、主に不整脈のモニタリングによるSafety and Feasibilityであり、Second endpointは心機能の推移の観察である。Second end pointの観察項目として、1.心臓超音波検査による心機能評価（拡張能を含む）。2. 組織学的評価。3.PETによる局所血流量の評価。4.BNP値を指標とした。

〔結果〕1. 骨格筋芽細胞は20～23日間の培養の後、目標細胞数が得られたが、purityは20～89%とばらつき、若年者でその純度は高かった。2. 観察期間中、心室頻拍は認めなかった。3. 全例観察期間後、死亡したものの当治療との関連死はなかった。4. 若年の2例にLVEF(left ventricular ejection fraction)の改善を認め、また、diastolic color kinesis index（拡張能）の改善が細胞移植部位を中心に認められた。同2例ではBNP値の低下を認めた。そのうち1例はLVADから離脱しえた。5. 心機能の改善した症例でのH_2O PETでは、細胞移植部位の血流の改善がみられた。Autopsyによる組織学的検討においては、myosin heavy chainの染色でわずかながらも細胞移植部位に骨格筋芽細胞の生着が確認され、factor VIIIの染色では、血管床の増加を認めた。6. 治療効果がなかった2例では治療対象心筋領域にviableな心筋が少なかった。

〔総括〕1. 自己骨格筋由来の筋芽細胞と骨髄単核球の二つの細胞の組み合わせたfirst-in manの心筋への再生治療を行った。2. 筋芽細胞の採取および培養においては、厚生労働省の定めるgood manufacturing practices (GMP)省令に基づき、目標細胞数に達成し、安全に移植しうる細胞を得ることができた。3. 観察期間中は、重篤な合併症を認めず、その後も、危惧されたSustained VTやVf不整脈は認めなかった。4. 年齢、移植細胞の比率、治療対象領域のviabilityなどの因子により、responder, Non-responderがあると思われるが、2例に心機能の改善を認め、1例はLVAS離脱しえた。5. 筋芽細胞と骨髄単核球を組み合わせた細胞治療は安全でかつ有用である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

虚血性心筋症によって末期心不全となった患者4名に対し、筋芽細胞と骨髄単核球を同時に心筋へ移植し、心機能の回復効果と安全性を検討した。
筋芽細胞の採取および培養においては、CPC(Cell processing center)において、目標細胞数に達成し、安全に移植しうる細胞を得ることができた。観察期間中は、重篤な合併症を認めず、その後も、危惧された心室頻拍や心室細動は認めなかった。年齢、移植細胞の比率、治療対象領域のviabilityなどの因子により、responder, non-responderがあると思われるが、2例に左室収縮率の改善、拡張能の改善、心不全を指標であるBNP(ナトリウム利尿ペプチド)値の低下などを認め、心機能の改善を見、1例はLVAS離脱しえた。筋芽細胞と骨髄単核球を組み合わせた細胞治療は安全でかつ有用である可能性が示唆された。本研究は自己骨格筋由来の筋芽細胞と骨髄単核球の二つの細胞の組み合わせたfirst-in manの心筋への再生治療で、今後の再生治療の指標となりうる研究として学位に値すると考える。