

平成27年4月12日

平成26年度独立行政法人日本学術振興会
藤田記念医学研究振興基金研究助成事業研究概要報告書

独立行政法人日本学術振興会理事長殿

研究者所属・職 岡山大学病院呼吸器外科・助教
氏 名 杉本 誠一郎

本助成事業による研究について、次のとおり報告します。

| |
|--|
| 1. 研究課題名 肺移植後の虚血再灌流障害と移植肺生着阻害における制御機構の解明 (英文名) The mechanism of ischemia reperfusion injury and abrogation of lung allograft acceptance after lung transplantation |
| 2. 研究実施期間 平成26年4月1日～平成27年3月31日 |
| 3. 助成金額 1,000,000円 |
| 4. 研究の目的 肺移植は終末期肺疾患に対する確立された治療法である。日本では岡山大学による1998年の生体肺移植の成功以来、2014年末までに405例の肺移植が行われ、岡山大学では本邦最多の136例（生体肺移植：77例、脳死肺移植：59例）の肺移植が施行された。岡山大学での肺移植後5年生存率は世界平均よりも良好（約80%）であるが、一般的に肺移植後の5年生存率は他の臓器移植より低く世界平均では約50%に過ぎない。肺移植後急性期の主な死因は、原発性移植片機能不全であり、虚血再灌流障害がその主因である。肺移植後の虚血再灌流障害の発症率は高率で、急性拒絶反応の発症や、肺移植後の長期生存を妨げる慢性拒絶反応の発症にも関連する。しかし、虚血再灌流障害が急性拒絶反応に与える影響や、その機序についてはまだ不明な点が多い。 また、他の臓器移植と同様に肺移植でも脳死ドナー不足が深刻な問題となっている。ドナー不足を解決するため、日本では生体肺移植やマージナルドナーを用いた脳死肺移植が行われてきたが、世界では心停止ドナーからの肺移植である心臓死肺移植が実際に臨床で施行され始めている。しかし、心臓死肺移植では心停止から一定時間、移植肺が温虚血に暴露されるため、冷虚血が主体だった従来の肺移植とは異なる影響が温虚血により及ぼされる可能性がある。これまでの心臓死肺移植の研究では、温虚血時間により発症する虚血再灌流障害に関する研究が行われてきたが、温虚血時間が心臓死肺移植後の急性拒絶反応に与える影響については明らかにされていない。 我々はこれまで肺移植後の虚血再灌流障害の機序解明や、冷虚血時間の延長により生じた虚血再灌流障害が急性拒絶反応に与える影響などについて、マウス同所性左肺移植モデルを用いた研究を行ってきた。異系の組み合わせのマウス肺移植でも、免疫抑制剤を用いることで、冷虚血時間が1時間であれば免疫寛容が導入され、移植後7日目でも急性拒絶反応が発症しないが、冷虚血時間を18時間に延長すると、同じ免疫抑制剤を使用しても、移植後7日目に高度の急性拒絶反応を認めた。今回は、この異系間のマウス肺移植でも免疫寛容の導入が可能な免疫抑制剤を使用し、心臓死肺移植における温虚血時間が急性拒絶反応に与える影響について、同所性マウス左肺移植モデルを用いて検討した。 |

5. 研究概要報告

方法：

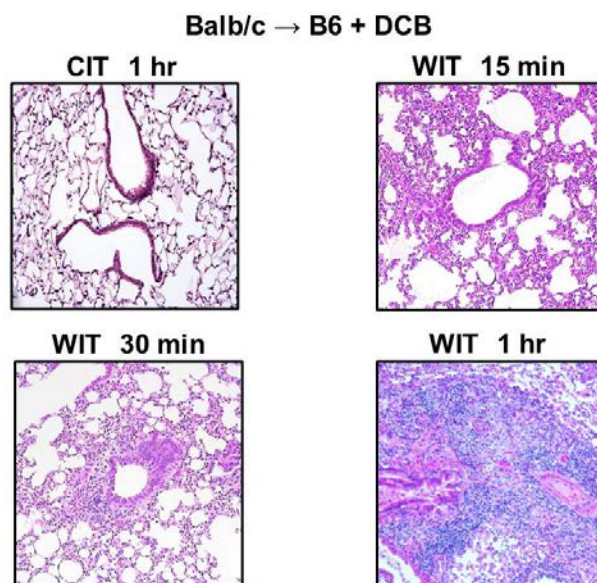
全身麻酔後、ドナーである Balb/c をヘパリン投与後に心停止させ、冷虚血群では、心停止の確認後に冷保存液で肺動脈から順行性肺還流を行い全肺を摘出した。その後、4℃で肺保存液中にドナー肺を1時間冷保存し、レシピエントである C57/B6 に対し異系間の同所性マウス左肺移植を施行した。温虚血群では、心停止の確認後に人工呼吸器で肺を換気したまま、室温で放置した（温虚血時間）。温虚血時間の長さにより15分、30分、60分間の3群を設定した。その後、冷保存液で肺動脈から順行性肺還流を行い全肺を摘出した。その後、レシピエントである C57/B6 に対し異系間の同所性マウス左肺移植を施行した。レシピエントには二重共刺激阻害による免疫抑制療法を施行するため、移植前に MR-1 を投与し、移植後2日目に CTLA4-Ig を投与した。移植後7日目にレシピエントマウスを犠牲死させ、移植肺を摘出し、病理組織学的所見やフローサイトメトリーなどで急性拒絶反応の評価を行った。

結果：

冷虚血群では、病理組織学的に急性拒絶反応はほとんど認められず、フローサイトメトリーでも移植肺に浸潤した CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞の比は約 1 : 1 であり、移植肺に浸潤した IFN γ 陽性 CD8 陽性 T 細胞は低値であった。しかし、温虚血群では温虚血時間が15分、30分、60分と延長するに従い、病理組織学的に急性拒絶反応が高度になっていた。またフローサイトメトリーでも移植肺に浸潤した CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞の割合が変化し、温虚血時間60分では約 1 : 2 と移植肺に浸潤した CD8 陽性 T 細胞の割合の増加を認め、移植肺に浸潤した IFN γ 陽性 CD8 陽性 T 細胞の割合も高値となった。冷虚血群では、二重共刺激阻害による免疫抑制療法の施行により、免疫寛容が導入され急性拒絶反応はみられなかったが、温虚血群では、二重共刺激阻害による免疫抑制療法を施行しても、わずかな温虚血時間やその延長により、移植肺の生着が阻害され急性拒絶反応が発症していた。

温虚血群で免疫寛容が導入されるモデルの開発や、温虚血により急性拒絶反応が発症する機序を解明するため、更に研究を進めている。

病理組織学的所見（DCB；二重共刺激阻害、CIT；冷虚血時間、WIT；温虚血時間）



6. 研究成果の発表について

独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業の英文称：
「JSPS Fujita Memorial Fund for Medical Research」

研究者所属・職 岡山大学病院 呼吸器外科・助教
氏 名 杉本 誠一郎

○論文発表 今後、研究成果の発表を行う予定である。

○口頭発表 今後、研究成果の発表を行う予定である。

○著 書

注：

- (1) 研究成果を学会誌等で発表する場合には、独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業による助成を受けた旨を必ず明記して下さい。
また、その別刷り2部を「研究概要報告書」と共に必ず提出して下さい。
- (2) 本基金の助成に係る代表的な論文、口頭発表及び著書にはタイトルの前に○を付けて下さい。