

京都大学	博士（医学）	氏名	平尾慎吾
論文題目	Recombinant human soluble thrombomodulin prevents acute lung injury in a rat cardiopulmonary bypass model (遺伝子組み換えヒトロンボモジュリンはラット人工心肺モデルにおいて急性肺障害を抑制する)		
(論文内容の要旨) 人工心肺(cardiopulmonary bypass : CPB)を使用する心臓手術では、高サイトカイン血症による全身炎症から急性肺障害を生じ、重篤かつ致命的となりうる。 High mobility group box1 (HMGB1) は核内 DNA 結合タンパク質であり、内因性障害関連物質として知られ、細胞外に放出された HMGB1 は細胞表面受容体を介して強力な炎症メディエーターとして作用し、炎症性免疫応答を更に促進する。心臓手術において全身炎症、急性肺障害の一因として報告され、治療対象として着目されてきた。遺伝子組み換えヒトロンボモジュリン(rTM)は、本邦にて開発された DIC 治療薬であり、 rTM 分子の持つ HMGB1 タンパクの吸着やプロテイン C の活性化などの作用から、抗炎症、抗アポトーシス作用による臨床応用が期待されている。これまで小動物における DIC モデルや肺炎モデルにおいてその急性肺障害抑制効果が証明されてきた。 本研究はラット CPB モデルを用いて rTM 投与による HMGB1 抑制効果および急性肺障害抑制効果を検討することを目的とした。 11 週オス Sprague-Dawley ラットを Sham 群 (カニューレーションのみ)、Control 群 (CPB のみ)、 rTM 群 (rTM 投与) の 3 群、各 6 匹に分類し、Control 群、 rTM 群では、右頸静脈から右房脱血、右大腿動脈送血にて、流量 100ml/kg/分で 90 分間人工心肺による灌流を行い、人工心肺終了後 4 時間にて犠牲死とした。 rTM 群では人工心肺開始 30 分前に rTM 3mg/kg を大腿静脈より投与した。 人工心肺後の酸素化率 (動脈血酸素濃度/吸入酸素濃度)は、Control 群のみで CPB 後有意に低下していた。摘出肺での水分貯留量を示す wet-to-dry ratio は Control 群で有意に高かった。組織学的評価においても、肺障害を示す鬱血、浮腫、炎症性変化、出血の全ての項目において、 rTM 群ではその障害が有意に抑制されていた。 人工心肺終了直後での血清炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-6)および HMGB1 は、 rTM 群で有意に抑制され、また、肺組織中 mRNA 発現においてもサイトカイン(TNF- α 、IL-6、IL-1 β)および HMGB1 の発現が rTM 群で有意に抑制されていた。また炎症カスケードの主な転写因子である nuclear factor kappa B (NF- κ B)タンパクの活性および mRNA 発現も rTM 群で有意に抑制されており、 rTM による NF- κ B 経路を介した炎症反応の抑制効果が示唆された。 一方、肺組織における TUNEL および活性化 Caspase-3 陽性細胞の増加が rTM 群において有意に抑制されており、アポトーシス誘導因子である Caspase-3 や Bcl-2 結合 X タンパクの mRNA 発現、活性化 Caspase-3 タンパクの発現も rTM 群で有意に抑制されていた。これらから rTM による肺組織内アポトーシス抑制効果も示唆された。 以上から、 rTM 投与は全身炎症および肺組織内炎症・アポトーシスを抑制することにより、人工心肺に伴う急性肺障害を抑制しており、心臓手術における肺障害予防において有用な手段である可能性があると考えられた。			

(論文審査の結果の要旨)

人工心肺(CPB)を用いた心臓手術後の全身炎症による急性肺障害は、一旦発症すると高い死亡率につながる。遺伝子組み換えヒトロンボモジュリン(**rTM**)は本邦にて開発された DIC 治療薬であり、内因性障害関連物質の一つとして知られる High Mobility Group Box1 (HMGB1) タンパクの吸着や細胞表面受容体阻害などの作用から、抗炎症、抗アポトーシス作用による全身および各臓器での炎症抑制効果が期待されている。

本研究はラット CPB モデルを用いて **rTM** 投与による **HMGB1** 低減効果および急性肺障害抑制効果を検討することを目的とした。CPB 開始前に **rTM** を 3mg/kg 静脈投与したところ、人工心肺終了後の酸素化低下が抑制され、組織学的な肺障害の抑制が示された。**rTM** 投与により、CPB 直後での血清中炎症性サイトカイン・**HMGB1** 濃度、および摘出肺での **HMGB1** 遺伝子発現は有意に低下していた。さらに炎症カスケードの主な転写因子である NF- κ B タンパクおよび遺伝子発現も **rTM** 投与群で有意に低下していた。また、肺組織におけるアポトーシス陽性細胞数、Cleaved Caspase-3 の遺伝子およびタンパク発現も **rTM** 投与群で有意に低下していた。

以上の研究は、人工心肺関連急性肺障害に対する新しい治療法の開発につながるものであり、心臓血管外科手術後の合併症軽減に大きく寄与するものと考えられる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 8 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降