京都大学	博士（医学）	氏　名	張　吉天
論文題目	Nebulized Phosphodiesterase Ⅲ Inhibitor During Warm Ischemia Attenuates Pulmonary Ischemia-Reperfusion Injury (温虚血中のホスホジエステラーゼⅢ阻害剤の吸入は肺の虚血再灌流傷害を軽減する)		

（論文内容の要旨）

【背景】臨床肺移植におけるドナー不足は、深刻な問題である。このため、生体肺移植やマージナルドナー肺の積極的な利用が行われているが、その数はまだまだ不十分である。ドナー不足を補うため、海外では心停止後ドナー肺が臨床肺移植に利用され始めている。心停止後ドナー肺は、循環停止による温虚血肺傷害が避けられないため、温虚血再潅流傷害の制御が極めて重要となる。通常、心停止後には循環停止のため、薬剤の経血管的投与は、困難であるが、肺では経気道投与（吸入）により、ドナー肺に投薬することが可能である。Milrinone は急性心不全などに対して臨床使用されているホスホジエステラーゼ阻害剤であり、cAMP の分解を阻害し、細胞内 cAMP のレベルを維持することで、血管平滑筋弛緩作用や細胞保護作用を示す。肺の虚血の際には、細胞内の cAMP レベルが低下することが知られており、本剤を温虚血中の肺に投与することにより、温虚血再灌流傷害を軽減する可能性がある。

【目的】本研究では、rat 肺 ex vivo 潅流モデルを用いて、温虚血中の Milrinone の経気道的投与により、虚血の際に低下する肺内 cAMP レベルを維持することで、肺の温虚血再潅流傷害を抑制できるかどうかを検討した。

【方法】体重 300g の Lewis rat を使用した。Rat を深麻酔下に気管切開を行い、肺動静脈にカニュレーションした後、心肺ブロックを摘出し、rat ex vivo 潅流モデルに接続した。人工胸郭内にて陰圧換気し、希釈した血液を用い 37℃で、10 ml / min の流量で 15 分間灌流し、ex vivo 回路が安定して灌流されていることを確認した。その後、55 分間の温虚血の後に、60 分間の再潅流を行った。虚血中には、Milrinone（Milrinone 群、n = 6）または生理食塩水（Control 群、n = 6）を吸入させた。Sham 群（n = 6）は虚血無しで 15 分+60 分の合計 75 分間連続して潅流した。再潅流中の生理データを経時的に測定した。また、再潅流後の肺組織を用いて、組織中の cAMP 濃度（ラジオイムノアッセイ法）、エネルギーレベル（HPLC 法）を測定し、アポトーシスの程度を TUNEL 法で評価した。

【結果】再潅流を通じて、Milrinone 群は、Control 群よりも肺血管抵抗は有意に低かった（再潅流終了時 $p<0.01$）。再潅流終了時の肺組織中の ATP レベルは、Milrinone 群が 9.87 ± 0.38 nmol/mg、Control 群が 6.91 ± 0.45 nmol/mg であり、Milrinone 吸入は肺組織中の ATP レベルを有意に高めた（$p<0.01$）。一方、cAMP のレベルは、両群の間に、有意差が認められなかった。再潅流した肺組織のアポトーシス細胞数は、Milrinone 群が 3.83 ± 0.91 個／10 視野（400 倍拡大）、Control 群が 46.17 ± 3.39 個／10 視野（400 倍拡大）であり、Milrinone 吸入は、肺組織中のアポトーシスを有意に抑制した（$p<0.01$）。

【考察と結論】温虚血中の Milrinone 吸入は、温虚血再潅流後の肺血管抵抗を有意に減少させた。また、肺組織中の ATP レベルを高め、アポトーシスを抑制した。一方、肺組織中の cAMP レベルは、予想に反して、両群間に有意差を認めなかった。本研究では、この原因は、明らかにはできなかった。検体採取部位が不適切であった可能性などの原因が考えられた。結論として、Milrinone 吸入は、心停止ドナー肺移植の際、温虚血による肺傷害を軽減する手段として有用な可能性があると考えられた。

（論文審査の結果の要旨）

本論文の背景には脳死臓器移植における深刻なドナー不足があり、その解決策の一つとして心停止後の臓器提供がある。本論文は心停止後肺移植では避けることのできない温虚血傷害から肺を保護することを目的とした研究である。Milrinoneは既に臨床使用されているホスポジエステラーゼ阻害薬であり、肺の保護作用が報告されている。倫理的制約のため心停止前に臓器保護目的の薬物を投与することは困難であり、また、心停止後では薬物の血管内投与の効果は不確実である。このため呼吸器系の特性を生かした心停止後の経気道的Milrinone投与による肺保護効果について検討した。

ラット肺ex　vivo灌流装置を用いて55分間の温虚血(循環停止)後に60分間の再灌流を行った。温虚血中生理食塩水を吸入させたControl群に比べて、Milrinoneを吸入させた群では再灌流後の肺血管抵抗の増加を有意に抑制した。また、Milrionone群の肺組織では温虚血再灌流後のアポトーシスが有意に抑制され、Milrionone吸入が肺温虚血傷害を軽減することを明らかにした。

これまで虚血前のMilrinoneの血管内投与が肺血管内皮傷害を抑制するとの報告はあるが、温虚血中のMilrinone吸入の肺傷害抑制効果を証明した報告として、これが最初の論文である。

以上の研究は温虚血から肺を保護することに貢献し、心停止後臓器移植の発展に寄与するところが多い。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21年5月25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