

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	佐 原 寿 史
論文題目	Beneficial Effects of Perioperative Low-dose Inhalation of Carbon Monoxide on Pulmonary Allograft Survival in MHC-inbred CLAWN Miniature Swine (周術期の低濃度一酸化炭素吸入は MHC 確立クラウン系ミニブタ肺移植においてグラフト肺の生存延長効果を有する)		
(論文内容の要旨)			
Heme oxygenase-1 によるヘム代謝分解産物である一酸化炭素 (CO) は、近年、抗炎症作用、抗アポトーシス作用など種々の細胞臓器保護作用を有することが報告され、移植医療の有力な治療方法になることが期待される。実際に、外因性の CO 投与が虚血再灌流傷害 (IRI) に対する抑制効果を持つことが示されており、更に小動物を用いた腎、心臓、膵島移植モデルで、CO 投与による拒絶反応抑制が報告されている。しかしこれまでに大動物臓器移植モデルで CO が移植臓器の生存期間を延長しうるかを評価した報告はない。有毒ガスとして広く知られる CO を臨床応用するためには、前臨床実験として大動物を用いた検討は必須であると考え、まずミニブタ <i>in situ</i> 肺 IRI モデルを用いて、低濃度 (250ppm) CO 吸入が IRI 進展抑制効果を持つことを示した。本研究では CO の移植領域での臨床応用性を評価するため、免疫学的背景が一致した前臨床大動物移植実験を可能とする主要組織適合性抗原 (MHC) が確立したミニブタを用いた検討を行った。 はじめに、MHC 確立クラウン系ミニブタを用いた拒絶モデルの確立および拒絶病変進展形式を評価するため、完全 MHC 不適合の組み合わせによる同種左肺片肺移植を、12 日間の持続タクロリムス (血中濃度 35-45 ng/dl) を唯一の免疫抑制療として行った (n=6)。拒絶反応は経時的な胸部 X 線、開胸肺生検により評価し、移植後免疫反応の変化を細胞増殖試験 (MLR)、細胞障害試験 (CML)、抗ドナー抗体産生により評価した。全 6 例でグラフト肺は術後 63 日以内に完全拒絶された (平均 47 ±7 日)。病理学的には全例で経時的に細胞性拒絶像に加え液性免疫拒絶像の進展を認め、血清中には細胞障害性を有する抗ドナー抗体の産生を認めるとともに、免疫染色により血管内皮細胞を中心に抗ドナー抗体の沈着を認めた。MHC 確立クラウン系ミニブタを用いた MHC 完全不適合肺移植によって、均一な進展形式をとる拒絶モデルを確立した。 次にこの移植肺拒絶モデルを対照群とし、CO 投与によるグラフト肺生着延長効果を検討した (n=5)。対照群と同様の免疫抑制療法下に、ドナーに対してはグラフト摘出までの 180 分間、レシピエントに対し再灌流 2 時間後までの計 390 分間、血中濃度 COHb が 15%以下で推移するよう 200-250ppm に濃度調節した経気道的 CO 投与を行った。全 6 例が術後 63 日以内に拒絶されたコントロール群に対し、ドナーおよびレシピエントに対する CO 吸入療法により副作用は認めず、5 例中 4 例で 63 日以上のグラフト肺生存期間が得られ (最長 120 日)、平均生存は 82 ±13 日と有意に延長した ($p=0.017$)。病理学的にも拒絶進展の抑制が認められ、また抗ドナー抗体の産生遷延とともに、術後 63 日の時点においても MLR、CML でドナー特異的な反応性の低下を認め、CO 投与による抗ドナー免疫反応の抑制効果が示された。更に術後 1 日目の時点で炎症性サイトカイン IL-1 β、IL-6 の有意な産生抑制が認められ、CO による IRI 抑制効果がグラフト肺生存に関与する可能性が示唆された。 以上の実験は、大動物肺移植モデルにおいて CO 吸入が副作用の出現なくグラフト生存に対し有意な効果を持つことを示した臨床応用への展開の可能性を示す結果であるとともに、より詳細な作用機序の解明を通じ更に安全かつ効果的な CO 投与方法の確立をはかる必要があることを示している。			

(論文審査の結果の要旨)			
肺移植後の虚血再灌流傷害 (IRI) は、早期グラフト機能不全の主因であり、また拒絶反応を惹起しうるため対策は重要である。種々の細胞保護効果を有する一酸化炭素 (CO) による IRI やグラフト拒絶抑制という小動物実験結果は、CO の新たな治療薬としての可能性を示している。有毒ガスである CO の臨床応用を目指した前臨床大動物実験として、ミニブタ肺 IRI モデルでの CO 吸入による IRI 抑制効果という準備実験結果を発展させ、本研究ではミニブタ肺移植モデルでの移植時 CO 投与の安全性と、移植肺の IRI および拒絶反応に対する効果を評価した。 主要組織適合性抗原 (MHC) 完全不適合ミニブタ肺移植を術後 12 日間タクロリムス持続投与下に行い、ドナー180 分+レシピエント 390 分の 200-250ppm CO 吸入 (血中 COHb 濃度 <15%) を加えた CO 群 (n=5) を、タクロリムス投与のみの対照群 (n=6) と比較した。 対照群での全例術後 63 日以内 (平均 47 日) の拒絶に対し、CO 群では 5 例中 4 例で 63 日以上 (平均 82 日) の生着と有意に延長し、かつ CO 吸入の副作用は認めなかった。病理学的小よび免疫学的評価により、CO 群では細胞性および抗ドナー抗体による液性拒絶反応の進展遷延が示された。移植後早期の IRI 抑制、炎症性サイトカイン (IL-1β、IL-6) 産生抑制が、CO による拒絶反応進展抑制機序の一つであることが示唆された。 大動物肺移植モデルを用いて一酸化炭素による虚血再灌流傷害抑制および移植肺生着延長効果を示した以上の研究は、一酸化炭素の移植医療への応用と治療効果の機序の解明に貢献し、新たな移植後拒絶反応の制御療法の探索にむけて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みとめる。 なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 12 月 20 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野ならびに学識確認のための試問を受け、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			