

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591565

研究課題名（和文）

ミトコンドリア傷害の抑制による肺虚血再灌流障害制御の試みと新たな臓器保存液の開発

研究課題名（英文）

Trial of the pulmonary ischemic re-perfusion injury suppression by the suppression of the mitochondrial injury

研究代表者

南 正人（Minami Masato）

大阪大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10240847

## 研究成果の概要（和文）：

肺移植の長期生存に影響を与える最大の因子は慢性拒絶であるが、その発生に関わる因子として移植直後の虚血再灌流障害の有無が重要である。再灌流時には激しいミトコンドリア傷害が出現する。再灌流時には酸化ストレスを介してミトコンドリア傷害（PT：permeability transition）が誘導され、大量のミトコンドリアタンパク質が漏出する。このミトコンドリアタンパク質流出は肺虚血再灌流障害の一因と言われている。今回、水素吸入によるミトコンドリア蛋白流出抑制が確認され、これにより肺虚血再灌流障害が抑制された。

## 研究成果の概要（英文）：

The main factor affecting the outcome of the lung transplantation is chronic rejection. It is said that one of the causes is the presence of the ischemia re-perfusion injury after transplantation. An intense mitochondrial injury appears at the time of re-perfusion. Mitochondrial injury (PT: permeability transition) is derived through oxidation stress at the time of re-perfusion, and at that time, a large quantity of mitochondrial protein leaks. Mitochondrial protein outflow was suppressed by the hydrogen inhalation, and a pulmonary ischemia re-perfusion was suppressed.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：肺移植、虚血再灌流障害、ミトコンドリア障害

## 1. 研究開始当初の背景

肺移植の長期生存に影響を与える最大の因子は慢性拒絶であるが、その発生に関わる因子として移植直後の虚血再灌流障害の有無が重要である。再灌流時には激しいミトコンドリア傷害が出現する。再灌流時には酸化ストレスを介してミトコンドリア傷害（PT: permeability transition）が誘導され、大量のミトコンドリアタンパク質が漏出する。このミトコンドリアタンパク質流出は肺虚血再灌流障害の一因と言われている。

末期呼吸不全患者に対する肺移植治療成績の向上には、致命的な術後球性気合併症の一つである虚血再灌流障害による移植肺機能不全を克服することが急務である。本研究には、サイクロフェリンDノックアウトマウスを用いて、虚血再灌流障害時のミトコンドリア障害の抑制が虚血再灌流障害を軽減することを評価し、サイクロフェリンDを標的分子とするサイクロスポリンの肺保存灌流液への添加が肺保存に有効であることを検証するためのTranslational Researchである。

## 2. 研究の目的

ミトコンドリア障害を抑制することにより、肺移植時の虚血再灌流障害を抑制する。

## 3. 研究の方法

当初の予定では以下の通りであった。  
肺虚血再灌流障害マウスモデルの作成  
人工呼吸器を用いた全身麻酔下で、左開胸に行い肺門部で血流を遮断。一定期間後遮断を解除し肺を再還流する。その後に採血、肺の摘出・固定を行う。血流遮断時間を30分、1時間、2時間で測定し、以下の項目を検討し、

至適条件を選定。① 動脈血酸素分圧測定。② 血中カルシウム濃度を測定。③ 肺組織活性を蛍光顕微鏡で測定。④ 摘出肺の湿干重量比を測定。⑤ 摘出肺組織のパラフィンブロックを作成し、HE染色で形態学的に評価。⑥ 摘出肺組織で細胞死検出キットによりin situで組織学的評価を行う。これらによりCypDノックアウトマウスによる再灌流障害の抑制効果を検証する。

サイクロフェリンDの抑制による、ミトコンドリア障害抑制を目指していたが、水素吸入という簡便な方法により、抗酸化・アポトーシス抑制が起こり、ミトコンドリア障害抑制を得られることが分かった。そのため、移植後、水素ガス吸入を行い、組織、および各パラメーターの変化をコントロール群（水素未吸入群）と比較した。

## 4. 研究成果

水素ガス吸入により、組織学的に虚血再灌流障害が抑制されていた。同時に、ミトコンドリア障害が抑制されており（Caspase-8の抑制）、水素ガスの虚血再灌流障害抑制の機構の一つとしてミトコンドリア障害抑制が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計2件）

- 1) Kusu T, Nakagiri T, Minami M, Shintani Y, Kadota Y, Inoue M, Sawabata N, Okumura M. Null allele alpha-1 antitrypsin deficiency: case report of the total pleural covering technique for disease-associated

- pneumothorax. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2012 Jul;60(7):452-5.
- 2) Kawamura T, Huang CS, Peng X, Masutani K, Shigemura N, Billiar TR, Okumura M, Toyoda Y, Nakao A. The effect of donor treatment with hydrogen on lung allograft function in rats. Surgery. 2011 Aug;150(2):240-9.
  - 3) Susaki Y, Inoue M, Minami M, Shintani Y, Nakagiri T, Sawabata N, Okumura M. Single-lung transplantation in a chronic pulmonary emphysema patient with a marginal donor who was ABO blood group nonidentical but compatible. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2012 May;60(5):312-5.
  - 4) Kanou T, Nakagiri T, Minami M, Inoue M, Shintani Y, Okumura M. Peritoneovenous shunt for chylous ascites after lung transplantation for lymphangiomyomatosis. Transplant Proc. 2012 Jun;44(5):1390-3.
  - 5) Lee J, Nakagiri T, Oto T, Harada M, Morii E, Shintani Y, Inoue M, Iwakura Y, Miyoshi S, Okumura M, Hirano T, Murakami M. IL-6 amplifier, NF- $\kappa$ B-triggered positive feedback for IL-6 signaling, in grafts is involved in allogeneic rejection responses. J Immunol. 2012 Aug 15;189(4):1928-36.

〔学会発表〕（計 2 件）

- 1) 南 正人 肺移植 移植医療研究会 大阪 2011/5/22
- 2) Kawamura T, Okumura M, et al. Inhalation of hydrogen reduced transplant-induced ischemia/reperfusion lung injury in rat through heme oxygenase-1 induction. The 9<sup>th</sup> lung transplantation conference Fukuoka 2012/10/18

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南 正人（Minami Masato）

大阪大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10240847

(2) 研究分担者

奥村 明之進（Okumura Meinoshin）

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：40252647

澤端 章好（Sawabata Noriyoshi）

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：50403184

井上 匡美（Inoue Masayoshi）

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：10379232

門田 嘉久（Kadota Yoshihisa）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：50464243

（H22 まで分担者として参画）

中桐 伴行（Nakagiri Tomoyuki）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：70528710

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：