

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592057

研究課題名(和文)強制オシレーション法を用いた肺移植後急性肺拒絶評価法の基礎的研究

研究課題名(英文)Non-invasive assessment for acute rejection in lung transplantation.

研究代表者

阪井 宏彰(SAKAI, HIROAKI)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・その他

研究者番号：50362489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：気道に負荷した振動波から生ずる圧や気流速度から呼吸抵抗が測定でき非侵襲であるのが強制オシレーション法(FOT)の特徴である。ラット左片肺移植モデルを作成しFOTを用いて肺のインピーダンスを測定。拒絶早期から病理学的な重症度に伴い末梢肺組織抵抗が上昇する傾向を認めた。我々はTissue fraction:TF(肺胞内の障害領域/全視野)を用いた病理学的指標を提示し、急性肺拒絶反応の重症度を評価、拒絶肺の換気特性とTFの間に強い正の相関を示し、換気特性からも病理学的な肺重症度が推定が可能であることを示唆した。FOTを用いた換気特性モニタリングが、急性拒絶反応の進行の監視に有用であることを示唆した。

研究成果の概要(英文)：After lung transplantation, early detection of acute rejection is important for timely and optimal treatment. We examined the relationship between lung mechanics and rejection grade in a rat acute rejection model using the forced oscillation technique (FOT), which provides non-invasive assessment of lung function. We assessed lung resistance and elastance (RL and EL) from implanted left lung of these animals. The rejection severity grade (A-grade) was quantified from histological images using tissue fraction (TF: tissue + cell infiltration area / total area). We found that TF, RL and EL worsened according to A-grade. Both E_{low} (at lowest frequency of EL) and E_{het} (the absolute difference between E_{low} and maximum value of EL) showed correlation with the mean value of TF. Our results suggest that the dynamic elastance as well as its frequency dependence reflect A-grade. These indexes should prove useful for detecting and monitoring the progression disease in acute rejection.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：呼吸器外科

キーワード：強制オシレーション法 急性肺拒絶評価 肺インピーダンス tissue fraction

1. 研究開始当初の背景

様々な細胞が集合し、特徴的な構造を成すことによって初めて機能しうる“肺”という臓器では、依然として呼吸生理学的アプローチが不可欠である。我々は、生体高分子(粘弾性体)や流体の機械的特性を評価しうる“レオロジー理論”の、冷保存肺の機能評価への応用 [Ikeyama, Sakai, *Eur Surg Res*. 2005;37(2):85-91], [Ikeyama, Sakai, *Eur Surg Res* 2006;38:48-53] や、強制オシレーション法 & 高速フーリエ変換を用いた数学的アプローチによる肺機能評価法 [Sakai, *J Appl Physiol*. 2001;91:737-747], [Hamakawa, Sakai, *Proc Am Thorac Soc*. 2006 Apr;3:A241] [Hamakawa, SAKAI. *ISOTT*. 2008 Aug; P54] [SAKAI. *ISOTT*. 2008 Aug; A64] を用い、これまで十分に理解されているとは言い難い、肺の動的機能評価について研究を行ってきた。

2. 研究の目的

(1) 呼吸機能検査の一つである強制オシレーション法 (Forced Oscillation Technique: FOT) は、その低侵襲性により、小動物から中大動物、さらにヒトに至るまで適応可能であり、(1)呼吸抵抗を周波数解析により中枢成分と末梢成分とに分別評価が可能 (2)安静呼吸下で最小限の呼吸努力で測定可能であり臨床的な優位性がある。 [Sakai, *J Appl Physiol*. 91: 737-747, 2001] ヒトでも応用可能な計測装置 IOS (Impulse Oscillation System) が近年市販され、臨床応用に向けて将来性が期待できる。 [Hamakawa, Sakai, *Transplant Int*. 2005 Oct;18 (Suppliment1):230], [Hamakawa, Sakai, *Proc Am Thorac Soc*. 2006 Apr;3:A241], [浜川博司, 阪井宏彰, 和田洋巳. 呼吸器診療のコツと落とし穴 3 《びまん性肺疾患・肺腫瘍》, 手術前後の肺機能検査の盲点, 中山書店; 2006:p.42-3], [阪井宏彰. 呼吸器外科の最新医療, 術後呼吸機能予測についての

新しい知見, 先端医療技術研究所; 2004;26(1):264-268]などに発表し、Impulse oscillation System: IOSを用いて肺移植後の急性肺拒絶反応が捉えられている可能性のある症例を報告した。 [Hamakawa, Sakai, *Transplant Int*. 2005 Oct;18 (Suppliment1):230] [Hamakawa H, Sakai, *Adv Exp Med Biol* 2010;662:293-8] [SAKAI. *ISOTT*. 2008 Aug; A64]

2) 肺移植後、急性拒絶反応が生じている根拠となる病理所見との対比が必要であり。ラット肺移植急性拒絶モデルにおける臓器レベルのメカニクスの評価と病理所見評価を同時に評価を行うことで、保存状態、移植後拒絶反応の早期発見に有用な情報が得られる可能性が高く。現時点でラット肺移植後の強制オシレーション法を用いた肺メカニクスの評価発表は世界で我々が始めてであり、今後の展開が大いに期待できる。 [A.Takahashi, H. Sakai, X. Zhao. *Proc Am Thorac Soc*. 2008 Apr;3:A307]

3. 研究の方法

臓器レベルでの解析(小動物)

1) ラット肺移植急性拒絶モデルにおける臓器レベルのメカニクスの評価

Brown-Norway Rat の左肺を摘出し Lewis Rat に同所性肺移植を行ない、ラットにおける左片肺急性拒絶モデルを作成した。移植術後に前述した擬似的ランダムノイズ発生小動物人工呼吸装置を用い呼吸インピーダンスを測定。各測定時点での急性拒絶反応の重症度 (Grade 0~Grade 4) を病理組織で判定し、これらと呼吸インピーダンスの各測定項目との関与の有無を比較し、急性拒絶における肺の機械的メカニクスが、重症度による変化の検討を行った。

2) 肺機能と病期の進行度の評価

急性拒絶反応は一般的に気道病変よりも先

に末梢組織病変が出現する。病理学的な重症度（グレード）は病理医や検査医の判断に左右される。そこで我々は作成した組織片をデジタル画像として利用し（J software : National Institutes of Health, Bethesda, MD）より客観的な評価を施行するために Tissue fraction: TF（肺胞内の障害領域/全視野）の指標を開発した。末梢障害の程度の指標を作成したこの指標は、病理学的な Grade と共に変化することが考えられ、肺移植急性拒絶反応の評価が正確かつ客観的にと施行でき、FOT とともに有用である可能性が考えられた。

4 . 研究成果

同所性ラット左片肺移植モデルを用いた Sham-BN群(no operation, n = 6) , Isograft群(BN BN, operation control, n = 6) , Allograft群(BN LEW, AR group, n = 17)の3群を用いた実験を施行、脱血死後開胸、左片肺換気を各群において異なる4つの異なる PEEPレベル(0, 2, 4, 6 cmH₂O)でFOTを用い肺インピーダンス(Z_L)を測定した。病理学的所見では、Isograft群は全てGrade 0であり、Allograft群はGrade 1(n=4), Grade 2(n=7),そしてGrade 3(n=6)の3群であった。Z_Lの解析結果では、気道成分よりも末梢肺組織成分において、拒絶早期から病理学的なGradeに伴い末梢肺組織抵抗が上昇する傾向を認めた。急性肺拒絶反応の重症度を病理組織をTFを使用し評価。Elow:EL(動的エラストランス)の最低周波集での値とEhet:ElowとELの最大値の絶対値差,とTFの平均値と標準偏差の相関を検討し、各々(r² = 0.709、p < 0.0001)(r² = 0.930、p < 0.0001)と強い正の相関を示した。逆に換気特性の結果から急性肺障害の重症度をから推定することが可能か否かを評価するためにEhetまたはElowを与えられる急性肺拒絶の重症度の条件付き確率を算出し、ELの呼吸周波数特性の結果と同様に急性肺拒絶の組織学的な重症度を良く反映することが示唆

された。これらの指標は、FOTを使用した換気特性のモニタリングが。急性拒絶反応の進行度合いを監視するために有用なシステムとなりうることを示唆した。

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23件)

1. Nakajima D, Chen F, Yamada T, Sakamoto J, Osumi A, Fujinaga T, **Shoji T**, Bando T, **Date H**. Hypothermic machine perfusion ameliorates ischemia-reperfusion injury in rat lungs from non-heart-beating donors. Transplantation. 92(8):858-63, 2011
2. Sakamoto J, Chen F, Yamada T, Nakajima D, Ohsumi A, Kikuchi R, Zhao X, Fujinaga T, **Shoji T**, **Sakai H**, Bando T, **Date H**. Effect of preprocurement ventilation on lungs donated after cardiac death in a canine lung transplantation model. Transplantation 92(8):864-70, 2011.
3. Kinose D, Ogawa E, Hirota T, Ito I, Kubo M, Haruna A, Marumo S, Hoshino Y, Muro S, Hirai T, **Sakai H**, **Date H**, Tamari M, Miyoshi M. A NOD2 gene polymorphism is associated with the prevalence and severity of chronic obstructive pulmonary disease in a Japanese population. Respirology 17(1):164-71, 2012
4. Hamakawa H, **Sakai H**, Takahashi A, Aoyama A, Zhang J, Chen F, Fujinaga T, Wada H, **Date H**, Bando T. Dynamic instability of central airways and peripheral airspace in rat lungs perfused with cold preservation solutions. Eur Surg Res 47(3):159-67, 2011

5. Egawa H, Tanabe K, Fukushima N, **Date H**, Sugitani A, Haga H. Current status of organ transplantation in Japan. *Am J Transplant* 12(3):523-30, 2012
6. Chen F, Matsukawa S, Ishii H, Ikeda T, Shoji T, Fujinaga T, Bando T, **Date H**. Delayed chest closure assessed by transesophageal echocardiogram in single-lobe lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 92(6):2254-7, 2011
7. Chen F, Fujinaga T, Shoji T, Sonobe M, Sato T, Sakai H, Bando T, **Date H**. Outcomes and pulmonary function in living lobar lung transplant donors. *Transpl Int* 25(2):153-7, 2012
8. Kobayashi M, Sonobe M, Takahashi T, Yoshizawa A, Ishikawa M, Kikuchi R, Okubo K, Huang CL, **Date H**. Clinical significance of BRAF gene mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 31(12):4619-23, 2011
9. Chen F, Sonobe M, Sato T, Sakai H, Huang CL, Bando T, **Date H**. Clinicopathological characteristics of surgically resected pulmonary pleomorphic carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg* 41(5):1037-42, 2012
10. Ishikawa M, Miyahara R, Sonobe M, Horiuchi M, Mennju T, Nakayama E, Kobayashi M, Kikuchi R, Kitamura J, Imamura N, Huang CL, **Date H**. Higher expression of EphA2 and ephrin-A1 is related to favorable clinicopathological features in pathological stage I non-small cell lung carcinoma. *Lung Cancer* 76(3):431-8, 2012
11. Nakajima D, Chen F, Yamada T, Sakamoto J, Ohsume A, Bando T, **Date H**. Reconditioning of lungs donated after circulatory death with normothermic ex vivo lung perfusion. *J Heart Lung Transplant* 31(2):187-93, 2012
12. Sawada S, Suehisa H, Yamashita M, Nakata M, Okumura N, Okabe K, Nakamura H, Tada H, Toyooka S, **Date H**. Current status of postoperative follow-up for lung cancer in Japan: questionnaire survey by the Setouchi Lung Cancer Study Group A0901. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 60(2):104-11, 2012
13. Shoji T, Sonobe M, Sakai H, Fujinaga T, Sato T, Chen F, Miyahara R, Bando T, Wada H, **Date H**. Pharmacokinetic study of weekly (day 1-5) low-dose S-1 in patients with non-small-cell lung cancer. *Rev Recent Clin Trials* 7(2):167-72, 2012
14. Chen F, Fujinaga T, Shoji T, Kubo T, Sonobe M, Sato M, Aoyama A, Sato T, Sakai H, Bando T, **Date H**. Short-term outcome in living donors for lung transplantation: the role of preoperative computer tomographic evaluations of fissures and vascular anatomy. *Transplant Int* 25(7):732-8, 2012
15. Shien k, Toyooka S, Kiura K, Matsuo K, Soh J, Yamane M, Oto T, Takemoto M, **Date H**, Miyoshi S. Induction chemoradiotherapy followed by surgical resection for clinical T3 and T4 locally advanced non-small cell lung cancer. *Ann Surg Oncol* 19(8):2685-92, 2012
16. Kudo M, Ogawa E, Kinose D, Haruna A, Takahashi T, Tahabe N, Marumo S,

- Hoshino Y, Hirai T, **Sakai H**, Muro S, **Date H**, Mishima M. Oxidative stress induced interleukin-32 mRNA expression in human bronchial epithelial cells. *Respir Res* 2012 13:19, 2012
17. Sakamoto J, Chen F, Nakajima D, Yamada T, Ohsumi A, Zhao X, **Sakai H**, Bando T, **Date H**. The effect of β -2 adrenoreceptor agonist inhalation on lungs donated after cardiac death in a canine lung transplantation model. *J Heart Lung Transplant* 31(7):773-9, 2012
 18. Ohsumi A, Chen F, Nakajima D, Sakamoto J, Yamada T, Fujinaga T, **Shoji T**, **Sakai H**, Bando T, **Date H**. Therapeutic effect of surfactant inhalation during warm ischemia in an isolated rat lung perfusion model. *Transplant Int* 25(10):1096-105, 2012
 19. Hamakawa H, **Sakai H**, Takahashi A, bando T, **Date H**. Multi-frequency forced oscillation technique using impulse oscillations: Can it give mechanical information about the lung periphery? *Adv Exp Med Biol* 765: 73-9, 2013
 20. Osumi A, Chen F, Sakamoto J, Nakajima D, Hijiya K, Motoyama H, Okita K, Horita K, Kikuchi R, Yamada T, Bando T, **Date H**. Protective effect of pre-recovery surfactant inhalation on lungs donated after cardiac death in a canine lung transplantation model. *J Heart Lung Transplant* 31(10):1136-42, 2012
 21. Chen F, Okubo K, Sonobe M, Shibuya K, Matsuo Y, Kim YH, Yanagihara K, Bando T, **Date H**. Hyperfractionated irradiation with 3 cycles of induction chemotherapy in stage IIIA-N2 lung cancer. *World J Surg* 36(12):2858-64, 2012
 22. Chen F, Fujinaga T, Bando T, **Date H**. Pulmonary function of individual lung lobes after complex living-donor lobar lung transplantation using inspiratory and expiratory three-dimensional computed tomographic volumetry. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 15(6):1077-9, 2012
 23. Toyooka S, Kiura K, Shien K, Katsui K, Hotta K, Kanazawa S, **Date H**, Miyoshi S. Induction chemoradiotherapy is superior to induction chemotherapy for the survival of non-small-cell lung cancer patients with pathological mediastinal lymph node metastasis. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 15(6):954-60, 2012
- {学会発表}(計13件)
- 1) **Date H**. 13th international symposium K. U. Leuven: Transplantation for non-transplant physicians: Workshop (2012.3.1-2 Leuven)
Living-donor lobar lung transplantation
 - 2) **Date H**. 13th international symposium K. U. Leuven: Transplantation for non-transplant physicians: Postgraduate Symposium (2012.3.3 Leuven)
Can I be a living lung donor?
 - 3) **Date H**. The 20th Annual Meeting of Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery (2012.3.9 Bali)
Thoracic symposium : Living-donor lung transplantation
 - 4) **Date H**. 71st Annual Meeting of Taiwan Surgical Association (2012.3.17 Taipei)
How to promote the quality and quantity of

organ donors?

5) **Date H.** 71st Annual Meeting of Taiwan Surgical Association (2012.3.17 Taipei) Transplantation from a non-heart-beating donor. An overview.

6) **Date H.** Korean Society for Thoracic Oncology (2012.6.1 Jeju) Living-donor lobar lung transplantation

7) **Date H.** Lecture at Asan Medical Center (2012.6.17 Seoul) Living-donor lobar lung transplantation

8) **Date H.** 2nd ATEP (2012.8.24 Shanghai) Concepts and future perspectives of VATS

9) **Date H.** The Cleveland Clinic Pulmonary and Critical Care Fellow's Education Day (2012.11.14 Cleveland)

Update in living-donor lobar lung transplantation

10) 生体肺移植ドナー患者における患者報告型アウトカムの調査 2012.5.13 第29回呼吸器外科学会 示説 50

阪井 宏彰、板東 徹、陳 豊史、藤永 卓司、**庄司 剛**、松本 いづみ、**伊達 洋至**

11) 肺移植適応患者の予後と QOL の調査 2012.5.13 第29回呼吸器外科学会 示説 50

阪井 宏彰、板東 徹、陳 豊史、藤永 卓司、**庄司 剛**、松本 いづみ 1、大藤 剛宏、岡田 克典、**伊達 洋至**

12) 平成 24 年 5 月 18 日 第 30 回呼吸器外科学会総会要望演題 肺移植適応患者の予後と QOL 調査 **阪井 宏彰**、板東 徹、陳 豊史、藤永 卓司、**庄司 剛**、松本 いづみ 1、大藤 剛宏、岡田 克典、**伊達 洋至**

13) 平成 24 年 5 月 17 日 第 30 回呼吸器外科学会総会 生体肺移植ドナー患者の QOL 前向き調査 **阪井 宏彰**、板東 徹、陳 豊史、藤永 卓司、**庄司 剛**、松本 いづみ、**伊達 洋至**

〔図書〕(計 4 件)

1. **Date H.** Oto T: Living-donor lobar lung transplantation for pulmonary arterial hypertension. In: Yuan JXJ, Garcia JGN, Hales CA, Rich S, Archer SL, West JB, eds. Textbook of Pulmonary Vascular Disease. New York: Springer, 1601-9, 2011

2. **Date H:** Living donor lobar lung transplantation. In: Klein AA, Lewis CJ, Madsen JC, eds. Organ Transplantation. A Clinical Guide. New York: Cambridge University Press, 128-32, 2011

3. **伊達洋至**：肺移植、伊藤 浩・松原広己(編)肺高血圧症診療マニュアル。南江堂、2012、pp92-97

4. **伊達洋至**：肺移植、泉 孝英・坂谷光則(編)びまん性肺疾患の臨床第 4 版。金芳堂、2012、pp76-79

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

なし

取得状況(計 0 件)

なし

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阪井宏彰(SAKAI HIROAKI)

京都大学医学系研究科 非常勤講師

研究者番号：50362489

(2) 研究分担者

伊達洋至(DATE HIROSHI)

京都大学 医学研究科 教授

研究者番号：60252962

庄司 剛(SHOJI TUYOSHI)

公益財団法人田附興風会 呼吸器外科 研究員

研究者番号：80402840