

# 生物肺を利用した人工肺開発に関する研究

(課題番号11671315)

平成11年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）研究成果報告書

平成14年 3 月

研究代表者	平成11年度	藤野昇三	（滋賀医科大学	医学部	講師）
	平成12年度	藤野昇三	（滋賀医科大学	医学部	講師）
	平成13年度	藤野昇三	（滋賀医科大学	医学部	講師）

はじめに	1
研究組織	3
研究経費	3
研究発表	
学会誌等	5
口頭発表	7
研究成果	
移植肺の機能	
1.Inhaled Nitric Oxide at the Time of Harvest Improves Early Lung Allograft Function	
	藤野昇三 . . . . . 9
2.Preharvest Nitroprusside Flush Improves Post-Transplant Lung Function	
	藤野昇三 . . . . . 17
3.Nicorandil, a potent adenosine triphosphate-sensitive potassium-channel opener	
	藤野昇三 . . . . . 25
4.Carbohydrate Selectin Inhibitor CY-1503 Reduces Neutrophil Migration and Reperfusion Injury in Canine Pulmonary Allografts	
	藤野昇三 . . . . . 33
5.Vasoactive Intestinal Peptide Ameliorates Reperfusion Injury in Rat Lung Transplantation	
	藤野昇三 . . . . . 41
6.Delayed Administration of Low-Dosa NPC18915 Ameliorates Lung Ischemia-Reperfusion Injury	
	藤野昇三 . . . . . 46
固定肺の機能	
固定肺のガス交換機能について	
1.体外灌流モデルを用いて	
	藤野昇三 . . . . . 53
2.生体内灌流実験	
	藤野昇三 . . . . . 58



# はじめに

## I.いとぐち

現在一般に用いられる人工肺は、すべて人工材料を使用したものであって、近年かなり改良されたとはいえ、未だに血栓形成や容血などの問題は十分には解消されていない。生物肺はその血行力学的に極めて合理的な構造や広大なガス交換膜面積など人工物では到底得られない長所を持っている。実際、体外循環の酸素化装置として研究も行われてきたが、早期に出現する肺浮腫、肺鬱血のために灌流時間は極めて短いものであった。

本研究は、生物肺の長所を活かし、しかも耐久性に富み、かつ抗原性の低い人工肺を開発することを最終の目的としており、これまでにこれに必要な基礎研究を行ってきた。

## II.これまでの研究結果

### 1. 肺の構造と機能

肺の保存状態の良否や、肺組織の変化を判定・検出するためには、まず前段階として肺の構造と機能を知る必要がある。血管造影・光学顕微鏡・電子顕微鏡などの手法を用いて研究を行った。その詳細は平成7年度科学研究費補助金（一般研究C）研究成果報告書（課題番号06671336）「生物肺を利用した人工肺開発に関する研究」で報告した。

### 2. 保存肺の機能

ウサギ保存肺の機能評価を<sup>1</sup>H-MRI(roton Magnetic Resonance Imaging)を用いて行った。冷却浸漬保存した状態で、組織内水分量、分布状況の評価が可能であり、非侵襲的な保存肺の評価方法として有用であった。その詳細も平成7年度科学研究費補助金（一般研究C）研究成果報告書（課題番号06671336）「生物肺を利用した人工肺開発に関する研究」で報告した。

### 3. 移植肺の機能

雑種成犬左肺移植モデルを用い、右肺結紮後6時間までの肺機能、循環動態を評価した。このモデルのコントロール群は1時間前後で著しい肺水腫に陥るが、potent Nitric Oxide donorであるNitroprusside (NP)やNicorandil (Nic)あるいはNitric Oxide (NO)そのもの、他にもCarbohydrate Selectin Inhibitor CY-1503, NPC18915, Vasoactive Intestinal Peptideが、肺移植後虚血再灌流障害を十分に抑制することが判明し、固定肺作成の際に応用可能と考えられた。その詳細も平成7年度科学研究費補助金（一般研究C）研究成果報告書（課題番号06671336）「生物肺を利用した人工肺開発に関する研究」および平成9年度科学研究費

補助金（基盤研究C）研究成果報告書（課題番号09671375）「生物肺を利用した人工肺開発に関する研究」で報告した。

### III.固定肺の機能

平成7年度科学研究費補助金（一般研究C）研究成果報告書（課題番号06671336）「生物肺を利用した人工肺開発に関する研究」および平成9年度科学研究費補助金（基盤研究C）研究成果報告書（課題番号09671375）「生物肺を利用した人工肺開発に関する研究」で報告した二種類の方法により灌流固定肺の肺機能を評価した。固定液としては、4%パラホルムアルデハイド、0.325%グルタルアルデハイド混合液を使用した。

1)mechanical oxygenatorをdeoxygenatorとして組み込んだ回路による生体外灌流実験：  
家兎摘出肺を用いてmechanical oxygenatorをdeoxygenatorとして組み込んだ回路による生体外灌流実験を行った。摘出の際にflush液にNitroprusside (NP)を混入し、さらにNitric Oxide (NO)を吸入させることによる機能の改善を検討した。無処置の摘出固定肺と比較すると良好なガス交換能が得られたものの、やはり安定した成績は得られず、今後のさらなる工夫が必要と考えられた。

2)灌流固定肺による生体内灌流実験：  
成犬左肺の肺動脈、肺静脈に送血、脱血管を各々挿入し、NOを吸入させながらNPを含んだ保存液で血液をflush outした後に左肺の灌流固定を行った。引き続き、十分量の肺保存液を灌流し固定液の洗い出しを行った。両肺換気時、右肺門結紮時のガス交換機能、循環動態について検討を加えた。無処置の灌流固定肺と比較すると良好なガス交換能が得られたが、長時間の評価は困難であり、今後のさらなる工夫が必要と考えられた。

### VI.まとめと今後の課題

今回の検討で固定液による遊離固定肺でも一定のガス交換機能が得られ、前処置の工夫によってさらなる機能改善の可能性があることが示唆されたが、その機能は保存・移植肺と比較して十分なものではなかった。今後、前処置、固定法などもふくめさらに検討を重ねることが必要である。肺機能の評価方法については、今後もex vivoの方法とin vivoの方法を並行して使用する予定である。

固定肺を生体に移植することを前提として、肺の抗原性（免疫応答）に関する研究も同時に施行した。

# 研究組織

## 平成11年度

研究代表者：藤野昇三（滋賀医科大学 医学部 講師）  
研究分担者：手塚則明（滋賀医科大学 医学部 助手）  
研究分担者：井上修平（滋賀医科大学 医学部 助手）

## 平成12年度

研究代表者：藤野昇三（滋賀医科大学 医学部 講師）  
研究分担者：井上修平（滋賀医科大学 医学部 助手）  
研究分担者：紺谷桂一（滋賀医科大学 医学部 助手）

## 平成13年度

研究代表者：藤野昇三（滋賀医科大学 医学部 講師）  
研究分担者：紺谷桂一（滋賀医科大学 医学部 助手）  
研究分担者：澤井 聡（滋賀医科大学 医学部 助手）

# 研究経費

平成11年度	1,300千円
平成12年度	900千円
平成13年度	900千円
計	3,100千円

# 研究発表

## 学会誌等

1. S Fujino, S Inoue, N Tezuka, J Hanaoka, S Sawai, M Ichinose, K Kontani: Physical development of surgically treated patients with primary spontaneous pneumothorax, *Chest* 116, 899-902, 1999
2. S Fujino, S Inoue, N Tezuka, K Kontani, S Sawai, J Hanaoka: Results of Combined Resection of Adjacent Organs in Lung Cancer, *Thorac Cardiovasc Surgeon* 48,130-133,2000
3. S Fujino, N Tezuka, S Inoue, M Ichinose, J Hanaoka, S Sawai, K Kontani: Reexpansion Pulmonary Edema due to High Frequency Jet Ventilation, *Surgery Today* 30, 1110-1111, 2000
4. S Asakura, H Kato, S Fujino, T Konishi, N Tezuka, A Mori: Role of Transforming Growth Factor- $\beta$  1 and Decorin in Development of Central Fibrosis in Pulmonary Adenocarcinoma, *Hum Pathol* 30, 195-198, 1999
5. S Inoue, S Fujino, N Tezuka, K Kontani, T Konishi, S Sawai, J Hanaoka, M Ichinose, K Teramoto, A Mori: A case of endobronchial hamartoma treated by transbronchial endoscopic electrosurgery, *J Bronchology* 6, 98-100, 1999
6. S Inoue, S Fujino, N Tezuka, S Sawai, T Konishi, J Hanaoka, M Ichinose: Encapsulated pericardial fat necrosis treated by video-assisted thoracic surgery:Report acase, *Surgery Today* 30, 739-743, 2000
7. K Kontani, O Taguchi, T Narita, N Hiraiwa, S Sawai, J Hanaoka, M Ichinose, N Tezuka, S Inoue, S Fujino, R Kannagi: Dendritic cells or cell expressing both B7-1 and MUC1 can rescue tumor-specific T lymphocytes from MUC1-mediated apoptotic cell death, *J. Leukocyte Biol* 68, 225-232, 2000
8. Kontani K, Sawai S, Hanaoka J, Tezuka N, Inoue S, Fujino S: Involvement of granzyme B and perforin in suppressing nodal metastasis of cancer cells in breast

and lung cancers, *Eur J Surg Oncol* 27(2), 180-186, 2000

9. S Asakura, N Tezuka, S Inoue, N Kihara, S Fujino: Angiomatoid Fibrous Histiocytoma in Mediastinum, *Ann Thorac Surg* 72, 285-287, 2001

10. Hanaoka J, Kontani K, Sawai S, Ichinose M, Tezuka N, Inoue S, Fujino S: Analysis of MUC4 mucin expression in lung carcinoma cells and its immunogenicity, *Cancer* 92(8), 2148-57, 2001

11. Inoue S, Fujino S, Kontani K, Sawai S, Suzumura Y, Hanaoka J, Fujita M: Tracheobronchoplasty for primary lung cancer: results and complications, *Bronchology and Bronchoesophagology: State of the Art*, Elsevier, Tokyo, 851-854, 2001

12. Fujita M, Fujino S, Inoue S, Kontani K, Sawai S, Suzumura Y: An adult case of hypoplasia of the middle lobe found during surgery for lung cancer, *Bronchology and Bronchoesophagology: State of the Art*, Elsevier, Tokyo, 423-425, 2001

## 口頭発表

1. S Fujino, S Inoue, K Kontani, S Sawai, J Hanaoka, Y Suzumura, M Fujita: Epidermal growth factor receptor in stage I non-small cell lung cancer - The relationship between concentration and prognosis, 9th World Conference on Lung Cancer, 2000(Tokyo)
2. K Kontani, S Sawai, J Hanaoka, M Ichinose, N Tezuka, S Inoue, S Fujino: The ability of dendritic cells loaded with cell lysate from breast cancer cells to elicit MUC1-specific cytotoxic T lymphocytes and anti-tumor effect of vaccination using the loaded dendritic cells, Experimental Biology 99, 1999(Washington, D. C.)
3. K Kontani, S Sawai, J Hanaoka, M Ichinose, N Tezuka, S Inoue, S Fujino, A Mori: The ability of dendritic cells loaded with cell lysate from breast cancer cells to elicit MUC1-specific cytotoxic T lymphocytes and anti-tumor effect of vaccination using the loaded dendritic cells, 1st World Conference on Breast Cancer, 1999(Ottawa)
4. K Kontani, S Sawai, M Fujita, J Hanaoka, S Inoue, S Fujino: Induction of immunity against tumor antigens in mice by vaccination of MUC1 cDNA, Immunology 2000 ( American Association of Immunologists Clinical Immunology Society ), 2000(Seattle)
5. S Sawai, K Kontani, J Hanaoka, S Fujino, S Inoue, Y Suzumura, M Fujita: Oligopeptides derived from MUC 1 mucin are available for inducing anti-cancer immunity, 9th World Conference on Lung Cancer, 2000(Tokyo)
6. K Kontani, S Sawai, Y Ozaki, J Hanaoka, N Tezuka, S Inoue, S Fujino: Suppression of Tumor Growth by Vaccination with MUC1 DNA, Immunology 2001( American Association of Immunologists Clinical Immunology Society ), 2001
7. K Kontani, K Teramoto, Y Ozaki, J Hanaoka, N Tezuka, S Sawai, S Fujino:



Co-vaccination with dendritic cells augmented suppressive effect on tumor growth by DNA vaccination targeting MUC1 tumor antigen, ECCO 11(the European Cancer Conference), 2001(Lisbon)

8. K Teramoto, K Kontani, Y Ozaki, J Hanaoka, N Tezuka, S Sawai, S Fujino: PAN-I-A peptides augmented antigen-specific humoral immunity elicited by vaccination with DNA encoding antigen proteins in mice, ECCO 11(the European Cancer Conference), 2001(Lisbon)

9. Y Ozaki, K Kontani, K Teramoto, J Hanaoka, N Tezuka, S Sawai, S Fujino: Analysis of Mac-2 binding protein/90K expression in lung cancer, ECCO 11(the European Cancer Conference), 2001(Lisbon)