

Title	Detection of IL-2 Receptor Gene Expression in Peripheral Blood from Renal Transplant Patients
Sub Title	腎移植患者末梢血におけるIL-2 receptor遺伝子発現の検出
Author	清水, 壮一
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.32-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0032">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0032</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Detection of IL-2 Receptor Gene Expression in Peripheral Blood from Renal Transplant Patients

(腎移植患者末梢血におけるIL-2 receptor遺伝子発現の検出)

清水 杜一

## 内容の要旨

移植患者の治療には、拒絶反応の早期かつ安全な発見が重要であるが、理学所見、臨床化学検査所見の異常は特異的でなく、実際の免疫反応より遅れておこってくるし、グラフト生検には出血などの合併症がある。移植後の病態では、グラフト内に浸潤している免疫細胞がIL-1、IL-2などのサイトカインを産生し免疫反応を調節している。そこで、これらのサイトカイン遺伝子発現を検出できれば拒絶反応の早期発見に有用であると考えられる。サイトカインを検出する方法として、末梢血中のタンパクレベルを測定するのが一般的であるが、サイトカインはautocrine、paracrine的に局所で働いているため、末梢血中のタンパクのレベルはその局所の変化を必ずしも反映していない。移植グラフトの生検組織などから直接局所のサイトカイン遺伝子発現を検出する試みもあるが、侵襲性である。末梢血には局所で活性化された免疫細胞が一部流入しており、これらの細胞における遺伝子発現を検出すれば、末梢レベルで局所の変化を知ることができると考えられる。しかしこれには従来単核球の単離が必要とされおり、人工的な遺伝子活性化が惹起されることが問題である。これに対し、もし末梢血全血より直接の検出が出来れば、遺伝子活性化を防ぐことができ臨床的にも有用と考えられる。本研究では、開腹手術、腎移植症例におけるIL-1、TNF、IL-2、IL-2R遺伝子発現のprofileを明らかにし、サイトカインモニタリングの可能性を検討した。対象は健康人3例、開腹手術例8例、腎移植4例であった。移植の1例は術後53日目に拒絶反応がみられた。末梢全血よりacid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform (AGPC)法に準じTotal RNAを抽出し、RT-PCRをおこなった。末梢血中のIL-1、TNF、IL-2、IL-2R遺伝子発現profileの検討では、健康人、開腹手術前、腎移植前にはこれらのmRNAは検出されなかった。開腹手術後には、IL-1、TNFが検出されたが、IL-2、IL-2Rは検出されなかった。腎移植後および拒絶反応時には、IL-1、TNF、IL-2Rが検出されたが、IL-2は検出されなかった。この結果より、本方法で移植患者と開腹手術患者とのサイトカインprofileの違いを識別でき、移植後のモニタリングの可能性が示唆された。IL-2が検出されなかった理由としては、免疫抑制剤によって抑制されている可能性、術後遅れて発現している可能性があり、経時的な検討が必要と考えられた。IL-2Rの上昇をきたすとされるサイトメガロウィルス (CMV) 感染などでは、CMV自体をPCRで検出することやIL-2R mRNAレベルを定量することが必要で、今後の検討課題と考えている。

## 論文審査の要旨

サイトカインが移植後の免疫反応に重要な役割を果たしていることはよく知られている。本研究は、末梢血全血からのRT-PCR法を用いたサイトカインmRNA微量検出法の確立と、その免疫学的モニタリングの可能性につき腎移植例で検討したものである。本方法で開腹手術例ではIL-1、TNFが検出されたが、腎移植例、拒絶反応例ではこれらに加えIL-2Rが検出された。本方法は非侵襲的で頻回の検査が可能、また遺伝子発現を人工的な活性化なしに検出する点でモニタリングに適している。また移植と開腹手術とのサイトカインprofileの違いを識別できたことは、移植患者のモニタリングに有用である可能性を示唆する。

審査ではまず、開腹手術例でIL-1、TNFが検出され、移植例でIL-2Rが検出されたことの意味について質問がなされた。これに対して開腹例では侵襲に対する生体反応として炎症性サイトカインが誘導され関与していること、また移植例ではこれに加え細胞性免疫の活性化が起こっているものと推測されると回答された。また心、肝移植ではどうかとの質問があり、いずれも拒絶反応でIL-2Rの上昇の報告があり、本研究は肝移植への準備として泌尿器科の協力を得て行われたものであることが述べられた。次いで、末梢血中のmRNAがタンパクレベルより局所の変化を反映するとの考え方への説明が求められ、これに対し末梢タンパクレベルは必ずしもグラフト組織の遺伝子発現と相関しないとの報告があること、末梢では局所に相関した遺伝子発現が検出された例があることより末梢の遺伝子発現がより局所を反映する可能性があるとして説明された。IL-2Rの上昇を本方法のように定性的に見ることの意味について質問がなされたが、これに対しては、今回のPCR条件下では開腹と移植が定性的に識別可能であったが、将来的には定量的な検討が必要であり、本研究でもAW108をinternal standardに用いた定量化を試みたが不成功であったと回答がなされた。また今回の結果からは拒絶反応を早期に発見するとの結論は得られないのではないかと指摘には、拒絶反応例に特異的な所見は得られなかったがサイトカインprofileで病態を識別できたことは研究の第一歩として今後の可能性を示唆するものと考えられ、今後経時的な検討に加えIL-4、IL-10、IL-12、IFN $\gamma$ などの他のサイトカインについても調べる必要があると説明された。また方法の具体的な手順については、日常の採血検体の一部、全血1mlから行うことができ、簡便で小児例にも適した方法であると述べられた。さらに肝移植例での検討も行えば興味深いとの助言をうけた。

以上、本研究は今後検討すべき課題が少なからずあるものの、臨床応用上有用なサイトカインの免疫学的モニタリングの方法を示した点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹  
微生物学・免疫学 小安 重夫 先端医科学 河上 裕  
内科学 池田 康夫  
学力確認担当者：北島 政樹、小安 重夫  
審査委員長：小安 重夫

試問日：平成17年 7月21日