慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Effects of Immunosuppressants on Induction of Regulatory Cells After Intratracheal Delivery of Alloantigen
Sub Title	拒絶反応を抑制する免疫制御細胞の誘導に対する非特異的免疫抑制剤の影響
Author	渋谷, 慎太郎
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.54-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0054

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.

Effects of Immunosuppressants on Induction of Regulatory Cells After Intratracheal Delivery of Alloantigen

(拒絶反応を抑制する免疫制御細胞の誘導に対する非特異的免疫抑制剤の影響)

渋　谷　　慎　太　郎

内容の要旨

【背景】臓器不全に対する最終的治療法である臓器移植の成績は、免疫抑制剤の進歩により目覚ましく進歩したが、拒絶反応の抑止は完全ではなく、また薬剤による副作用（腎毒性・耐糖能異常）や非特異的な免疫抑制による副作用（発癌や感染症のリスクの増加）が解決されない問題点として存在する。これらの副作用を防止し、治療成績を向上させるための究極的な目標は、ドナー特異的な免疫寛容を誘導することである。その機序としては、拒絶に関与する細胞の消去（Deletion）および機能的不応答（Anergy），免疫制御細胞の誘導（Regulation）などが考えられているが、骨髄から常時新しい細胞が供給される状況では、免疫制御細胞の誘導がより効果的と思われる。また、現在臨床において使用されている非特異的免疫抑制剤も比較的有効な結果を示しているため、現状の薬剤を使用しながら移植片に対する拒絶を阻害する免疫制御細胞を誘導することが重要であると考える。しかしながら、それらの非特異的免疫抑制剤が免疫制御細胞の誘導や働きにどのような影響を与えているかについての報告はみられない。我々が開発したマウスの気管内投与モデルでは、ドナー抗原の術前気管内投与のみにより、７日後にマウスの移植心の拒絶を抑制する免疫制御細胞の誘導が可能である。そこで、その７日間に非特異的免疫抑制剤（FK506, cyclosporine（CsA），azathioprin（AZA），mycophenolate mofetil（MMF），rapamycin（RAPA））を投与し、免疫制御細胞の誘導における影響を検討した。

【方法】８～12週の雄性マウスを使用した。移植モデルとしてレシピエントの腹部にドナーの心臓を移植する異所性心移植モデルを用いた。CBAマウス（第一レシピエント）にC57BL/6の脾細胞（抗原）を気管内投与した７日後に、第一レシピエントの脾細胞を取り出し、無処置CBAレシピエント（第二レシピエント）に静注移入した。同日C57BL/6ドナー心移植を施行した。また、免疫抑制剤が免疫制御細胞の誘導に与える影響を調べるため、各濃度の各種免疫抑制剤をドナー脾細胞気管内投与の前処置後から脾細胞を取り出し細胞移入するまでの７日間連日腹腔内投与し、同様の細胞移入実験を行った。

【結果】C57BL/6の脾細胞を気管内投与したCBAマウスの脾細胞を取り出し移入したCBAマウスでは、C57BL/6移植心の著明な生着延長効果が認められた（Median Survival Time：MST＝50日）。一方、BALB/cの脾細胞を気管内投与したCBAマウスの脾細胞移入がされた群では移植心は早期に拒絶された（MST＝９日）。よって、ドナー特異的な免疫制御細胞が誘導されたことが示された。0.1mg/kgのFK506、0.2mg/kgのRAPAを投与した群では、同様の生着延長効果が認められた（MST＝55，50日）。20，40mg/kgのMMF、0.4mg/kgのRAPAを投与した群では、生着延長効果が著明に増強された（MST＞100日）。0.3，0.5，1.0mg/kgのFK506、５，10，25mg/kgのCsA、1.0，2.0mg/kgのAZAを投与された群では、移植心は早期に拒絶された（MST７-14日）。

【結論】気管内投与モデルにおける免疫制御細胞の誘導は、MMF・高濃度RAPAでは促進される。よって、臨床における免疫抑制剤の使用は、免疫制御細胞の誘導の観点からMMFあるいは高濃度RAPAが有利であることが示唆された。

論文審査の要旨

本実験では、マウス異所性心移植モデルを用いて、ドナー脾細胞の経気管内投与のみの前処置により、わずか１週間でドナー特異的な免疫制御細胞の誘導が可能であることが示された。さらに、この免疫制御細胞の分画にはCD4+CD25＋陽性細胞や樹状細胞など種々の細胞群が存在することが判明している。また、現在臨床で最も用いられている免疫抑制剤の免疫制御細胞の誘導における影響について検討した結果では、MMFとRAPA、低濃度FK506が有用である結果が得られた。

審査ではまず、今回の結果を臨床導入するに当たり、気管内投与モデルの位置付けと結果の一般化についてどう考えるか質問がなされた。気管内投与モデルで誘導される免疫制御細胞と臓器移植を行ったときに誘導される免疫制御細胞の同一性を検証しなければならないが、現時点では、臓器移植において発現する免疫制御細胞の分画は種々報告されており明らかにはなっていない。CD4+25+陽性細胞に関するFoxp3の発現は検討中であると回答された。また、臨床導入を前に、他の実験系で検証してみる必要はあるが、われわれの気管内投与モデル以外で免疫制御細胞を誘導するためには、臓器移植を行ってtoleranceを誘導しなければならず、今回の実験を全て再現することは困難であると説明された。さらに、臨床への展望として、現在のkey drugであるFK506やCsAは急性拒絶には除外するわけにはいかない薬剤であるが、今回の結果を踏まえ、使用の是非ついて質問された。確かに初期の急性拒絶を抑制することは重要であり、現在の免疫抑制剤ではFK506やCsAの使用は除外できないと考えられる。今回の結果は、あくまでも免疫制御細胞誘導の観点からの結論であり、他のメカニズムも多様に絡んでいるであろうことを考慮すると、必ずしも初期から高濃度FK506やCsAを使用すべきではないという結論ではないと回答された。次に、メカニズムとしてそれぞれの薬剤がregulatory cellsのどの部分をターゲットに作用しているのかについて質問された。前述のように、移植における免疫制御細胞自体が様々なpopulationを持つことが推測されている段階であり、薬剤がどこに作用するのか論ずるのは難しく報告もないと思うと回答された。一方で、本論文中に検討されているメカニズムの考察に対して、薬剤によって実験背景が異なっており、今後さらなる検討の余地があると助言された。

以上のように、本研究はそのメカニズムについてさらに検討されるべき点を残しているものの、これまで報告されなかった非特異的免疫抑制剤の免疫制御細胞の誘導における影響を解明した点において有意義な研究であると評価された。

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
薬剤学　谷川原祐介
学力確認担当者：池田　康夫
審査委員長：小安　重夫

試問日：平成19年2月27日