

〔結果〕

ラットメサンギウム細胞において Ang IV は、蛋白および mRNA レベルで PAI-1 発現を濃度および時間依存性に増加させ、その作用は等濃度の Ang II とほぼ同程度であった。高糖濃度では、両者の相加的な発現亢進がみられた。また Ang IV による PAI-1 発現は AT4 受容体拮抗剤でのみ抑制され、AT1 および AT2 受容体拮抗剤では抑制されなかった。

〔考察〕

本研究の結果から、Ang IV は腎メサンギウム細胞において AT1 受容体および AT2 受容体とは独立して、AT4 受容体を介し PAI-1 発現を増加させることが明らかとなった。また、正常糖濃度下に比べ、高糖濃度下培養では Ang IV による PAI-1 蛋白産生および mRNA 発現が相加的に増加したことから、Ang IV が糖尿病性糸球体硬化症の発症・進展に関与する可能性が示唆された。

なお Ang IV の AT4 受容体を介する PAI-1 発現亢進に至る細胞内シグナルについては今後検討する必要がある。

〔結語〕

Ang IV はメサンギウム細胞の AT4 受容体を介し、高糖濃度下の PAI-1 発現を相加的に増加させることによって、糖尿病性糸球体硬化症の発症・進展過程に関与する可能性が示唆された。

論文審査の要旨

アンジオテンシン (Ang) II の糖尿病性腎症の発症・進展に及ぼす影響については多くの知見があるが、Ang II の分解産物である Ang IV の腎における生理作用は不明な点が多い。本研究では、高糖濃度下培養したラット腎メサンギウム細胞を用いて、Ang IV の PAI-1 発現に及ぼす影響を PAI-1 蛋白と mRNA 発現の面から検討した。さらに、AT1、AT2 および AT4 受容体拮抗剤の効果も調べた。その結果、Ang IV は蛋白レベル、mRNA レベルともに PAI-1 の発現を促進することが明らかとなり、その作用は Ang II とほぼ同程度であった。また、Ang IV の PAI-1 発現は AT4 受容体拮抗剤で抑制させることが示された。

本研究は、Ang IV が高糖濃度下で PAI-1 発現を促進することを初めて明らかにしたものであり、糖尿病性腎症の発症・進展に関与する可能性を示唆した価値ある研究である。

氏名(生年月日)

瀬戸口

誠

本籍

学位の種類

博士(医学)

学位授与の番号

甲第 443 号

学位授与の日付

平成 20 年 2 月 15 日

学位授与の要件

学位規則第 4 条第 1 項該当(医学研究科専攻、博士課程修了者)

学位論文題目

Homeostatic proliferation is an inevitable barrier in mixed chimerism-induced tolerance induction in cynomolgus monkeys

(カニクイザルモデルを用いた混合キメラによる免疫寛容誘導と T 細胞恒常性増殖の解析に関する研究)

主論文公表誌

American Journal of Transplantation 投稿中

論文審査委員

(主査) 教授 田邊 一成

(副査) 教授 八木 淳二, 泉二登志子

論文内容の要旨

〔目的〕

免疫抑制剤を内服する必要のないドナー特異的な免疫寛容の誘導は移植に携わる研究者の究極の目標となっている。その際、宿主 T 細胞を取り除いておくことは免疫寛容を誘導するための有効な方法とされているが、小動物ではリンパ球減少状態から引き続き起こる homeostatic proliferation によって免疫寛容の障壁となることが報告されている。しかし、現在、大動物や臨床において T 細胞の恒常性増殖 (homeostatic proliferation) が起こることは報告されているものの、これが小動物のように免疫寛容の障壁となっていることは未だ証明されていない。我々はカニクイザルを用いて混合キメラを誘導させ、臨床応用可能なプロトコルの作成を目指していたが、T 細胞の恒常性増殖が寛容誘導の妨げとなっているという結果が得られたので報告する。

〔対象と方法〕

薬剤による前処置後、骨髄移植 (BMT) を行い、カニクイザルにおける骨髄キメラモデルの作製を試みた。前処置は busulfan + ifosfamide + anti-thymoglobulin の 3 剤とし、BMT 後の免疫抑制療法を 3 群に分けて検討した。Group 1 (n=3) ではタクロリムスを、Group 2 (n=5) は補助シグナル阻止物質 (抗 CD40L 抗体, hCTLA-4Ig) をそれぞれ投与し、Group 3 では補助シグナル阻止物質とタクロリムス (n=2) あるいは塩酸グスベリムス (n=1) を併用した。

〔結果〕

一時的なキメリズムは Group 1 で 2/3 (66%)、Group 2 は 4/5 (80%) で誘導された。Group 2 のキメラを認めなかった 1 例はマラリア賦活化により安楽死させた個体であった。よって Group 2 のプロトコルの有効性・安全性は確認できたが、day14~28 にドナー細胞が拒絶され、それと一致して宿主のエフェクターメモリー CD8⁺T 細胞が増加していることも観察された。これは BMT を行わず、前処置のみ行った個体においても同様の増加が認められたことから、恒常性増殖に起因するものであることが示された。day60 に行ったリンパ球混合試験、ELISPOT ではドナー特異的な反応性、IFN- γ 産生細胞数の増加が確認され、in vitro では寛容誘導は確認できなかった。このため、Group 3 ではタクロリムス、塩酸グスベリムスをそれぞれ追加で投与することでエフェクターメモリー CD8⁺T 細胞の抑制を目指したが、これを抑制することも、またキメラを維持することもできなかった。

〔考察〕

サルを用いてキメリズムを誘導する研究は幾つかのグループが行っているが、どのグループも安定したキメラの作製およびドナー特異的な寛容の誘導も成し得ていない。我々の結果も同様であったが、ドナー細胞が拒絶される機構を解明することが重要と考えた。本研究から小動物のように大動物においても T 細胞の恒常性増殖が寛容誘導の妨げとなっていることが示され、留意が必要である。さらに Group 3 の結果が示すように既存の免疫抑制剤はメモリー T 細胞にあまり効果がないことから、メモリー T 細胞の維持に必要な IL-7、-15 などを標的にした新規薬剤の開発が望まれる。これらがメモリー T 細胞を制御できれば、寛容誘導が実現可能になるのではないかと推察された。

〔結論〕

カニクイザルモデルにおいて T 細胞の恒常性増殖が寛容誘導の障壁となっていることが明らかとなった。

論文審査の要旨

本研究は臓器移植の最終目標である免疫学的寛容を誘導しようとする研究であり、東京理科大学生命科学研究所免疫生物学部門との共同研究による学術フロンティア事業として行われた。小動物での過去の知見および今回の研究によって得られた小動物の研究知見をもとにカニクイザルを用いて行われた研究である。ドナーから移入された骨髄細胞がキメラ状態をへて拒絶されるメカニズムを解明すべく行われた研究であり、大動物で初めてメモリー T 細胞の増殖による移植骨髄の拒絶を示した論文である。この研究は今後の免疫寛容誘導のための基礎となる重要な研究であり、この成果が大きなステップとなると考えられる。研究は、大動物という難しい実験であるにもかかわらず非常によくデザインされておりその成果も評価できる。