

令和元年6月4日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K19842

研究課題名（和文）CSF-1受容体陽性マクロファージ制御による、小腸移植後免疫抑制療法の確立

研究課題名（英文）Effect of CSF-1 receptor inhibitor for the acute rejection after intestinal transplantation

研究代表者

工藤 博典 (Kudo, Hironori)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：00723032

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：小腸移植後急性拒絶制御におけるターゲットとしてマクロファージに着目し、特にCSF-1受容体陽性マクロファージ制御による免疫抑制療法の確立を研究した。ラット小腸移植モデルを用いた研究において、CSF-1受容体阻害剤は、急性拒絶反応の所見を軽減する結果が得られた。また小腸臓器保存の研究も行い、24時間後において、細胞内液組成・細胞外液組成保存液で保存したラット小腸は、生理食塩水で保存した小腸よりも、病理学的に良好な状態を維持していた。いずれの成果も発展性を有しており、さらなる研究を行っていく所存である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CSF-1受容体阻害剤が、小腸移植後急性拒絶を軽減したことは、このメカニズムにおけるマクロファージの役割が大きいことを示し、また新たな免疫治療法のターゲットとなり得ることを示した。この成果により、小腸移植後急性拒絶がさらに制御され、小腸移植成績が向上することは、現在治療に難渋している腸管不全患者にとっても朗報となり得ると考えている。

研究成果の概要（英文）：I analyzed whether the CSF-1 receptor inhibitor reduce the acute rejection after intestinal transplantation. As result, CSF-1 receptor inhibitor reduced the finding of the acute rejection after intestinal transplantation by rat. Furthermore, I performed the research of the solution of the intestinal preservation. After 24 hours, the intestine preserved by the solution of intracellular / extracellular composition were pathologically better than that by saline.

研究分野：小児外科、小腸移植

キーワード：小腸移植 急性拒絶反応 自然免疫 臓器保存

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

・小腸移植において、既存のリンパ球制御主体の免疫抑制療法には限界があり、新たな免疫抑制療法の開発が不可欠である。

小腸移植は不可逆的腸管不全患者の根治的治療である。導入免疫抑制療法の導入等により短期成績は向上した(1年生存率:約80%)が、中長期的成績は未だ発展途上で、5年生存率は50%にとどまる。これは、急性・慢性を含む拒絶反応の長期的な制御に難渋しているため、一方で免疫抑制強化に伴う感染症も問題である。成績向上には免疫抑制療法の強化が必要だが、感染症の対応にも苦慮しており、既存のリンパ球制御を主とした免疫抑制療法には限界を感じている。

・新たな免疫抑制療法のターゲットとして自然免疫系・マクロファージに着目した。

獲得免疫の成立には、その前段階の自然免疫の関与が不可欠で、特に自然免疫が亢進した状況では、より獲得免疫の成立:急性拒絶反応(acute rejection,以下、AR)を発症しやすい。そこで我々は、ARの発症と感染症の制御における自然免疫系の役割に着目した。

我々は、2011年に取得した科研費(基盤C)による、ラット小腸移植モデルを用いたAR時の腸管マクロファージのサブセットについて、フローサイトメトリーを用いて解析した。この研究により、ED1/2/3マーカーによる4つのサブセットを同定し、とりわけED1+ED2+ED3+サブセットがARに強く関与することを報告した。さらに、マクロファージの起源、発生過程について検討し、単球/マクロファージの分化・増殖を刺激する造血系サイトカインであるマクロファージコロニー刺激因子(CSF-1)に関する知見を得た。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、CSF-1R阻害剤を用いて、選択的にCSF-1R陽性腸管マクロファージを枯渇させ、小腸移植後急性拒絶反応の発症を抑制するという、新たな免疫抑制療法の確立を目的とする。

具体的には、ラット小腸移植モデルを用いて、以下の3点について明らかにする。

- ・急性拒絶反応時のCSF-1R陽性/陰性マクロファージのそれぞれの機能・動態の解明
- ・CSF-1R陽性腸管マクロファージの抑制が、ARを抑制しうる
- ・虚血債灌流障害(IRI)に対するCSF-1R阻害剤の効果を検討すると共に、マクロファージの視点から、IRIのARへの影響について検討する。

## 3. 研究の方法

(1)ラット虚血再灌流障害/小腸移植後急性拒絶反応モデルの使用(既に確立)

IRI/ARモデルは、代表者が作製経験があり、既に完成している。同系移植(非拒絶群)はドナー・レシピエント共にLewisを、異系移植(拒絶群)は、ドナーにBN、レシピエントにLewisを用いて異所性小腸移植を施行する。移植手技はMonchik & Russelの方法に準じて行う。この拒絶モデルでは移植後約5日で軽度拒絶を、約7日で高度拒絶を発症する事が予備実験で判明している。移植後1、7日目に犠牲死させ、グラフト腸管を採取する。

(2)CSF-1R阻害剤のIRI/ARに対する効果と、IRIのARへの影響の検討

薬剤:今回使用するCSF-1R阻害薬はPLX5622(Plexxikon社(米国)開発)である。これは、現在ヒトの関節リウマチに対する臨床試験が進行中の薬剤であり、既に同社より実験用薬剤の源末提供を受けている。最終的には、摘出した移植腸管の一部からH&E染色標本を作製しIRI/ARの重症度について評価することで、薬剤効果を判定する。

## 4. 研究成果

正常ラットに CSF-1R 阻害薬を投与すると、24 時間後にフローサイトメトリーにて約 30%、E D 1 陽性単球が減少し、その状態が 7 日間の観察において継続した。

さらに、ラット A R モデルに CSF-1R 阻害薬を投与したところ、急性拒絶の所見が軽減しており、自然免疫・マクロファージが急性拒絶反応の成立に深く関わっていることを示し、本薬剤自体も将来的に面得区抑制剤の候補となる可能性を示した。マクロファージサブセットや機能への本剤の影響も今回の検討で行う予定であったが、結果を得ることは出来ず、今後の課題となった。

また、今回、自然免疫を制御しうる行程として臓器保存にも着目し、その研究も行った。これまで、小腸保存液は細胞内液組成の保存液が使用されている。しかし、外界に接した臓器で、拒絶反応と感染症という異なるベクトルを制御しなければならない点で小腸と共通している肺移植領域では細胞内液様組成保存液ではなく、細胞外液様組成の保存液を開発し臨床応用されている。保存液を細胞外液組成にすることで、移植臓器細胞の膨化を予防でき、細胞膜電位を維持できることが要因と考えられる。また、低濃度 Na/高濃度 K の細胞内液様臓器保存液による臓器灌流時の血管れん縮誘発が危惧されており、その点でも外液組成保存液は有用である可能性がある。

ラット小腸を、細胞内液組成保存液、細胞外液組成保存液、生理食塩水で冷保存し、一定時間後に摘出し、H E 染色にて病理学的に腸管状態を評価した。結果、保存から 6 時間では 3 者の所見に差を認めなかったが、24 時間では、生理食塩水で保存した小腸絨毛の脱落を認めたのに対し、細胞内液組成保存液、細胞外液組成保存液では、構造が維持されていた。両者での差は認めなかった。

今回の成果より、CSF-1 受容体阻害剤が小腸移植後急性拒絶を軽減したことは、このメカニズムにおけるマクロファージの役割が大きいことを示し、また新たな免疫抑制療法のターゲットとなり得ることを示した。今回の成果が、小腸移植後急性拒絶のさらなる制御に寄与し、小腸移植成績が向上することは、現在治療に難渋している腸管不全患者にとっても朗報となり得ると考えている。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 7 件)

1. 脳死小腸移植成人症例における補液離脱に関連する因子の検討、第 54 回日本移植学会、工藤博典、和田基、仁尾正記ら 2018
2. Experience with intestinal transplantation at a single institution、PAPS2018 (国際学会) Hironori Kudo, Motoshi Wada, Masaki Nio, et al. 2018
3. 小腸移植症例における腎合併症の検討、第 53 回日本移植学会総会、工藤博典、和田基、仁尾正記ら 2017
4. Pancreatic complications after intestinal transplantation、第 15 回 CIRTA2017(ニューヨーク)(国際学会) Hironori Kudo, Motoshi Wada, Masaki Nio, et al. 2017
5. ドナー年齢が小腸移植に与える影響とは、第 117 回日本外科学会定期学術集会、工藤博典、和田基、仁尾正記ら 2017
6. 腸管不全症例に対する小腸移植を含めた腸管リハビリテーションプログラムの意義、第 52 回日本移植学会総会、工藤博典、和田基、仁尾正記ら 2016
7. Outcomes of intestinal rehabilitation for intestinal motility disorder、5Tth World congress of pediatric surgery (国際学会) Hironori Kudo, Motoshi Wada, Masaki Nio, et al. 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：  
ローマ字氏名：  
所属研究機関名：  
部局名：  
職名：  
研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。