

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04333

研究課題名(和文) 拒絶反応早期検出のための樹状細胞の役割と急性腎障害バイオマーカー測定に関する検討

研究課題名(英文) Roles of dendritic cells in early detection of graft rejection and their dynamic influences on AKI biomarkers

研究代表者

上野 琢哉 (Takuya, Ueno)

東京医科大学・医学部・兼任講師

研究者番号：00296469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,700,000円

研究成果の概要(和文)：ドナープールが少ない移植医療の現状を考慮すると、より安全に迅速に拒絶反応の検出を行う必要がある。本課題では尿中AKIバイオマーカーを用いた検討で移植後早期より、そのリスクを検知するシステムの開発研究を進めた。コロナ禍での研究期間であり一般診療をはじめとした従来の診療、検査、手術が制限される中、コメディカルを含めた安全なドナー手術、レシピエントへの臓器提供が出来た事は、十分な成果と考える。

同時に主題である 樹状細胞を用いた移植医療における新たな治療戦略の開発 や NGALやL-FABPを用いた臨床拒絶早期発見の検出法の開発 に関しては、その可能性を見出す十分な成果を遂げ報告するに至った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題はこれまでの治療対象であったT cell主体の治療に加え、抗原提示細胞の1つである樹状細胞への変遷を予期させる革新的な研究成果となった。移植臓器の提供が少ない環境下で、安全に移植医療を提供をし得たことは十分な成果であり、同時に新たな治療戦略の可能性を示唆させる結果に繋がったのは、今後の移植医療における更なる可能性を予測させるものがある。

研究成果の概要(英文)：Due to the lack donor pool, to detect graft rejection in earlier time points should be mandatory and also high accuracy is preferable. Therefore, we aimed to investigate to develop a new therapeutic system to detect it with using measurements of acute kidney injury (AKI) biomarkers such as NGAL and L-FABP. In the current study. Additionally, we determined a new role of Dendritic cells as a therapeutic target in transplantation instead of T cell targeted therapy, which would allow us to lead to prolong graft survival in a safety manner. These work have been already reported in both several international congress (i.e. American Transplant Congress, E-ISFA) and papers (Curr Protein Pept Sci. 2019, Transplant Proc 2018, 2016, Artif Organs. 2017, 2017, Front Immunol. 2016, Transpl Int. 2016, Cytokine. 2016).

研究分野：移植外科、移植免疫、急性血液浄化、バイオマーカー

キーワード：拒絶反応 イメージング 急性腎障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ドナープールが少ない状況での拒絶反応の早期検出は重要な課題である。そのため、本研究では、安全かつ迅速な拒絶反応の検出に向けた新たな検査法の開発を主眼とし、イメージング手法やバイオマーカーを用いた安全で高精度の検査法の確立を目指した。従来の腎生検を用いた検査法ではサンプルエラーや合併症の問題点、更にはレシピエントの精神的負担等の課題が山積していたが、本法ではそれらを払拭する新たな検査法の可能性である事から、その臨床的価値は非常に高いことが予想されるものであった。同時にイメージングターゲットである樹状細胞は、これまでの我々の報告 (*J Am Soc Nephrol*, 2015) にある様に、移植医療における新たな治療対象である可能性を示唆するものであり、本研究課題による成果は新たな移植医療の治療戦略としてその成果が期待された。

2. 研究の目的

拒絶反応の早期検出を目的とした本課題では、目的遂行のために 細胞間 臓器レベルでの移植免疫反応の解明ならびに治療対象としての樹状細胞の検証、 急性腎障害のバイオマーカーによる拒絶反応の早期検出法の確立 の2つのプラットフォームを用意した。腎生検を主体とするこれまでの手法と大きく異なるのは、サンプルエラーのリスクを軽減し、臓器レベルでの拒絶反応の検出にある。特にイメージングターゲットである樹状細胞に関しては、移植医療における新たな治療対象としての可能性をも見出す事を目的としている。またバイオマーカーとして用いた NAGL、L-FABP はレシピエントから採集した尿を用いて測定する事から、患者負担の軽減につながり更には安全で簡易的に測定出来ることも大きなメリットである。その結果、日々の診療で拒絶反応の早期検出に繋がる可能性を示唆させるものであり、多くの施設で利用される事が期待される新たな試みである。

3. 研究の方法

通常の生体腎移植ならびに脳死ドナーからの提供臓器を用いた献腎移植のレシピエント尿を用いて、NAGL、L-FABP のバイオマーカーを移植直後より経時的に採取し、測定 (ICU 入室時、術後 1 日目、7 日目)。同時に腎機能評価としての血清、尿中クレアチニンの測定、尿量を含めた GFR 値の測定等も行った。臓器移植後、現在に至るまでの数ヶ月から数年にわたる外来診療を含めた追跡調査 (拒絶反応) とマーカー測定値との相関関係に関する検証を行った。また拒絶反応に関するイメージングはネズミの心臓移植モデルを用いて、共同研究施設である米国 Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School での生体顕微鏡 (Intra Vital Microscopy : IVM) を用いて、T 細胞 樹状細胞のクロストーク撮影を時間、場所 (移植臓器、リンパ組織等) を様々な環境で行った。

4. 研究成果

研究期間中、研究施設である東京医科大学八王子医療センターにて、69 例 (2016 年 12 月～) の腎移植 (生体、献腎) を行い、検体採取 (195 件) を行った。現在、これらの研究データを検証中 (バイオマーカーと拒絶反応との関連： 腎生検サンプルを用いた病理学的拒絶反応との比較検証、 血清、尿中クレアチニン等の測定値を用いた臨床的拒絶反応との比較検証) であり、アメリカ移植学会 (2023 年) での発表予定 (演題投稿済み) である。同時に英文紙 *Am J Transplant*, *Transplantation* に既に投稿中である。また米国の共同研究施設にて IVM での革新的な発見は、これまでにアメリカ移植学会 (2017, 2018 年)、日本外科学会で発表済み (2017 年) である。また、血液浄化法を用いた臓器保存法に向けた新たな樹状細胞の役割に関しては、欧州透析学会での発表 (2018, 2020 年) を行い、現在では新たな科研費取得 (基盤 C : 人工腎臓を用いた移植医療の確立に向けて - 虚血再灌流障害における樹状細胞の役割 -, 2020-2022, 代表者) に繋がった。また、研究内容の一部は、*Curr Protein Pept Sci* (2019 年), *Transplantation Proceedings* (2018, 2018 年), *Artif Organs* (2017, 2017 年) に掲載された。特に *Artif Organs* に掲載された血液浄化法を用いた樹状細胞への pre conditioning (代謝改善としての可能性) は、移植免疫における虚血再灌流障害の是正に繋がる可能性を秘めており、新たな臓器保存法の開発に繋がる可能性を秘めている (図 1)。虚血再灌流時における生体への負荷負担は非常に大きく、血管内皮細胞や尿細管障害をはじめ多くの組織や臓器障害の起因となりうる。その中で、現在開発中の臓器灌流装置 (従来の早期保存法に血液浄化カラムを融合したモデル) は、図に示す Zone 1 (左上) から Zone 4 (右下) に

進行（病態悪化）に移行する過程の進行を食い止める役割（組織代謝の改善を来すことで炎症性メディエーターの減少を確認）があり、虚血状態に陥った移植臓器の恒常性の是正に繋がる可能性を見出した。特に脳死ドナーからの臓器提供においては、その効果が絶大であり、研究施設の献腎移植において、既に3例の成功例を導いている。

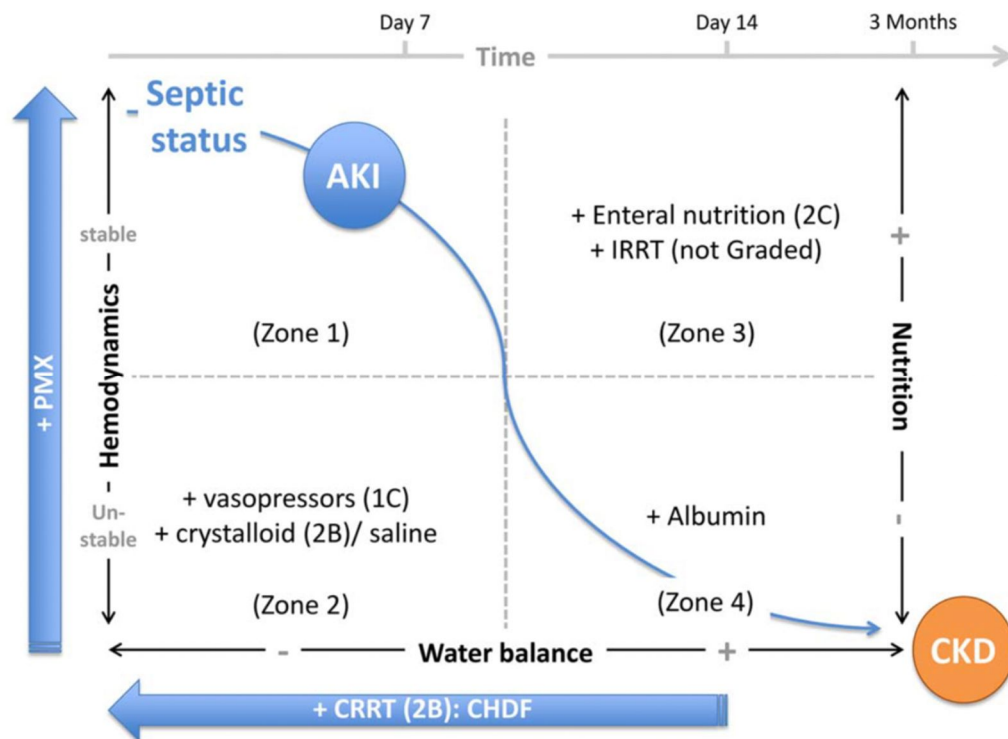


図 1: The Roles of Continuous Renal Replacement Therapy in Septic Acute Kidney Injury, Ueno T, *Artif Organs*, 2017, 667-672.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kihara Y, Konno O, Yokoyama T, Nakamura Y, Ueno T, Iwamoto H	4. 巻 50(8)
2. 論文標題 An Examination of Pregnancy Cases After Kidney Transplantation: Single-Center Experience	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 2531-2534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2018.03.081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Konno O, Yokoyama T, Kihara Y, Nakamura Y, Ueno T, Takeuchi H, Iwamoto H	4. 巻 50(8)
2. 論文標題 Early Outcomes of Living-Donor Kidney Transplantation With Immunosuppression Therapy Induction With Tacrolimus Extended-Release: A Comparison With Cyclosporine.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 2457-2460
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2018.04.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ueno T	4. 巻 41
2. 論文標題 Thomas E. Starzl, MD, PhD: Father of Transplantation-March 11, 1926-March 4, 2017.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Artif Organs	6. 最初と最後の頁 601-602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aor.12988	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ueno T	4. 巻 417
2. 論文標題 The Roles of Continuous Renal Replacement Therapy in Septic Acute Kidney Injury.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Artif Organs	6. 最初と最後の頁 667-672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aor.12941	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Cai Songjie, Zhao Jing, Ueno Takuya, Chandraker Anil	4. 巻 20
2. 論文標題 Potential Roles of Siglecs in the Regulation of Allo-Immune Reaction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Protein & Peptide Science	6. 最初と最後の頁 823 ~ 828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1389203720666190507095759	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 H. Iwamoto, M. Sugimoto, O. Konno, Y. Kihara, T. Yokoyama, Y. Nakamura, M. Sunamura, T. Ueno
2. 発表標題 Diagnosis of Acute Renal Rejection Using Saliva Metabolome Analysis
3. 学会等名 2018 American Transplant Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ueno T, Ikeda T, Yokoyama T, et al.
2. 発表標題 Cytokine modulation in abdominal septic shock following acute care surgery
3. 学会等名 The 2nd Congress of E-ISFA, the European Group of International Society for Apheresis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ueno T, et al.
2. 発表標題 Imaging cell biology in transplantation
3. 学会等名 2017 American Transplant Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上野琢哉、Seok-Hyun Yun, Martina McGrath、他
2. 発表標題 Live images of donor dendritic cells trafficking via CX3CR1 pathway
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ueno T, et al.
2. 発表標題 The current status of Acute Blood Purification in Sepsis what we know, what we don't
3. 学会等名 3rd Congress of the European Group, International Society for Apheresis（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Transplant Ctr, Brigham and Women's Hospital (BWH) http://transplantresearch.bwh.harvard.edu/who-we-are/takuya-ueno-md-phd-faha/ BWH, Harvard Medical School http://researchfaculty.brighamandwomens.org/BR1Profile.aspx?id=6265 Harvard Catalyst Profile https://connects.catalyst.harvard.edu/Profiles/display/Person/59300</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岩本 整 (Iwamoto Hitoshi) (00338831)	東京医科大学・医学部・准教授 (32645)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	竹内 裕紀 (Takeuchi Hironori) (20439912)	東京薬科大学・薬学部・准教授 (32659)	
研究分担者	高原 史郎 (Takahara Shiro) (70179547)	大阪大学・医学系研究科・招へい教授 (14401)	
研究分担者	新見 正則 (Niimi Masanori) (80198415)	帝京大学・医学部・准教授 (32643)	
研究分担者	中村 有紀 (Nakamura Yuki) (50349487)	東京医科大学・医学部・講師 (32645)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関