

自己評価報告書

平成23年5月16日現在

機関番号： 82612
研究種目： 基盤研究 (B)
研究期間： H20~H22年度
課題番号： 20390349
研究課題名 (和文) 移植医療への応用を目指した免疫制御細胞療法の確立に関する研究

研究課題名 (英文) Establishment of immune cell therapy for transplant medical application

研究代表者

梨井 康 (LI XIAOKANG)
独立行政法人国立成育医療研究センター・研究所・RI 管理室長
研究者番号： 60321890

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 外科学臨床医学

キーワード： 移植・再生医療、遺伝子、細胞・組織、免疫寛容、細胞療法、バイオマーカー

1. 研究計画の概要

現在用いられている免疫抑制剤による移植医療は、移植を医療としての段階へ導きはしたが、半永久的な投与による副作用、精神的および経済的な負担が大きい為、新たな拒絶反応抑制方法の確立が切望されている。我々は移植医療への応用を目指して、免疫制御リンパ球 (Treg 細胞)、間葉系幹細胞を移植片拒絶反応抑制に利用する免疫 (抑制) 細胞療法の確立を本研究の目標とする。これらの細胞を用いる事により、免疫抑制剤の使用を極力減らし、安全かつ患者の生活の質 (QOL) を向上させる。

2. 研究の進捗状況

①初年度の研究では、制御性 T (Treg) 細胞の移植医療の臨床応用を目指して、今までの研究で明らかになった生体内数少ない細胞増殖抑制作用を持つ Treg 細胞を優位的に増やせる抗 CD28 superagonist 抗体 (SupCD28 抗体) を用い、腎移植、Graft versus Host Disease (GvHD) モデルにて、抗体投与後の活性化 Foxp3 陽性 Treg 細胞の動態をターゲットとし、その動態、抗原特異性および免疫抑制効果の機序について検討した。腎移植モデルを用いた移植片の生着延長効果の検討では、移植前或は直後に抗体を投与する事により顕著な生着延長効果が得られた。また、腎移植後の特異的な免疫寛容が誘導され、心臓テストグラフトの生着も確認できた。

②平成21年度の研究では、間葉系幹細胞の移植片拒絶反応抑制に利用するための機序の解明であった。MSC からクローニングし、クローン化 MSC (cMSC) が得られた。これら三種類の細胞も用いて、抗体、ConA、アロ抗

原刺激による T 細胞反応系に添加したところ、MSC は Mφ と同様各刺激に対する T 細胞増殖反応の抑制機能を示した。しかし、cMSC は T 細胞の増殖反応を増強した。一方、F1 (LEW x DA, 4~6 週齢/120g) を放射線処理後、三種類の細胞 (1.0×10^7 cells) をそれぞれ投与し、翌日 Naïve Lewis リンパ球 (1.0×10^7 cells) を移植した GvHD モデルにおいては、MSCs および Mφ 細胞投与群では 60 日以上生存が得られ、cMSC 投与群では、無処置群と同様に 23 日前後であった。

③平成22年度の研究では、主にマウス同種異系心臓、肝臓移植拒絶・寛容モデルの解析及び移植後拒絶・寛容予測するバイオマーカーの探索であった。今後 GeXP 法による移植後拒絶・寛容を予測できるバイオマーカーの発見、患者に対する免疫抑制療法の軽減や休止の指標として期待したい。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

4. 今後の研究の推進方策

以上の研究成果を踏まえて、我々は近年の幹細胞研究の成果を移植領域に取り入れ、幹細胞から制御性 DC、MDSC 細胞への分化誘導法の確立、移植における免疫抑制細胞の起源および活性化の機序を探り、免疫寛容との繋がりの解明、および臨床応用へ目指すことを重点的に念頭においた次世代免疫制御細胞療法の確立を研究目標とした。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 7 件)

1. Azuma H, Isaka Y, Nomi H, Inamoto T, Li X-K, Hönig T, Takabatake Y, Ichimaru N, Ibuki N, Matsumoto K, Ubai T, Katsuoka Y, Takahara S. Induction of Donor-Specific Tolerance Using Superagonistic CD28 Antibody in Rat Renal Allografts: Regulatory T-Cell Expansion Before Engraftment May Be Important. *Transplantation* 90 (12):1328-1335; 2010. (査読有)
2. Kitazawa Y, Li X-K*, Liu Z, Kimura H, Isaka Y, Hunig T, Takahara S. Prevention of graft-versus-host diseases by *in vivo* supCD28mAb-expanded antigen-specific nTreg cells. *Cell Transplant* 19(6):765-74; 2010. (査読有)
3. Morita M, Fujino M, Jiang GP, Kitazawa Y, Xie L, Azuma M, Yagita H, Nagao S, Sugioka A, Kurosawa Y, Takahara S, Fung J, Qian S, Lu L, Li X-K. PD1/B7-H1 interaction contribute to the spontaneous acceptance of mouse liver allograft. *Am J Transplant* 10(1):40-46; 2010. (査読有)
4. Kitazawa Y, Fujino M, Li X-K*, Xie L, Ichimaru N, Okumi M, Nonomura N, Tsujimura A, Isaka Y, Kimura H, Hunig T, Takahara S. Superagonist CD28 antibody preferentially expanded Foxp3-expressing nTreg cells and prevented graft-versus-host diseases. *Cell Transplant* 18(5): 627-37; 2009. (査読有)
5. Funeshima-Fuji N, Fujino M, Xie L, Kimura H, Takahara S, Ezaki T, Zhu BT, Li X-K. Prolongation of rat major histocompatibility complex-compatible cardiac allograft survival during pregnancy. *J Heart Lung Transplant* 28(2): 176-82; 2009. (査読有)
6. Azuma H, Isaka Y, Li X-K, Hunig T, Skamoto T, Takabatake Y, Mizui M, Kitazawa Y, Ichimaru N, Ibuki N, Inamoto T, Katsuoka Y, Takahara S. Superagonistic CD28 antibody induces donor-specific tolerance in rat renal allografts. *Am J Transplant* 8(10): 2004-14; 2008. (査読有)
7. Kitazawa Y, Fujino M, Sakai T, Azumu H, Kimura H, Isaka Y, Takahara S, Hünig T, Abe R, Li X-K. Foxp3-expressing

regulatory T-cells expanded with CD28 superagonist antibody prevent rat cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 27(4): 362-71; 2008. (査読有)

〔学会発表〕 (計 9 件)

1. Morita M: The requirement of the B7-H1 for spontaneous acceptance after mouse liver allografting. 22th International Congress of the Transplantation Society; Sydney, 2008. 8. 10-14.
2. Kitazawa Y: Superagonist CD28 antibody preferentially expand Foxp3-expressing nTreg cells to prevent graft-versus-host disease. 22th International Congress of the Transplantation Society; Sydney, 2008. 8. 10-14.
3. 北沢祐介: ラット骨髄由来間葉系幹細胞によるGvHD抑制効果についての検討 第44回日本移植学会総会 大阪 2008. 9. 19-31.
4. Kitazawa Y: Superagonist CD28 antibody wcpand antigen-specific Foxp3-expressing nTreg cell to prevent graft-versus-host disease. 第38回日本移植学会総会 京都 2008. 12. 1-3.
5. 李 小康: CD28superagonist を用いた免疫寛容誘導 第44回日本移植学会総会 大阪 平成20年9月19日~21日.
6. 李 小康: 移植免疫寛容の誘導・維持機序の解明および免疫制御細胞療法の確立 第36回日本臨床免疫学会総会, 東京. 2008. 10. 17-18.
7. Kitazawa Y: Bone marrow mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation and prevent rat graft-versus-host disease but cloned MSCs are failed. The Okayama 2009 CTS-JSOPMB Joint Conference, Okayama, 2009. 4. 20-21.
8. Morita M: The importance of the PD-1/PD-L1 co stimulatory signal for spontaneous acceptance after mouse liver allografting. 第39回日本免疫学会総会, 大阪. 2009. 12. 2-4.
9. Xie L: A novel biomarker gene set predicts allograft rejection by multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. 第14回国際免疫学会, 神戸. 2010. 8. 22-27.