

機関番号：14401  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2008年度～2010年度  
 課題番号：20390368  
 研究課題名（和文） TregとTh17の制御による肺移植後の拒絶反応に対する新たな治療戦略の開発  
 研究課題名（英文） A novel strategy for suppressing rejection of the transplanted lung graft by regulation of Treg and Th17  
 研究代表者  
 奥村 明之進（OKUMURA MEINOSHIN）  
 大阪大学・医学系研究科・教授  
 研究者番号：40252647

## 研究成果の概要（和文）：

肺移植は他の臓器移植に比べて拒絶反応の抑制・治療が難しく、有効かつ安全な免疫寛容誘導の方法が求められている。移植免疫では特にヘルパーT細胞の関与が大きく、CD4+ T細胞の機能の制御が拒絶反応の抑制につながると期待される。近年、Tregに拮抗する作用を有する新たなCD4+ T細胞サブセットで、IL-17を特異的に産生するTh17が発見された。本研究で、肺移植後の慢性拒絶の病理像である閉塞性細気管支炎の局所病変において、Th17の集積が明らかされた。また、Th17の分化抑制により慢性拒絶が抑制された。

## 研究成果の概要（英文）：

A newly defined T cell subset called Th17 has been focused during these several years. Th17 is supposed to be induced by TGF $\beta$  and IL-6 and to suppress regulatory T cells, which results in development of autoimmune diseases. We hypothesized that Th17 is involved in rejection of the graft after lung transplantation. Our experimental results using mouse model showed that Th17 is significantly induced in the local site of chronic rejection. Furthermore, bronchiolitis obliterans is suppressed by anti-IL6 antibody.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
総計	11,200,000	3,360,000	14,560,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：肺移植、閉塞性気管支炎、拒絶反応、IL-6、Th17、IL-17、Stat3、シグナル伝達

## 1. 研究開始当初の背景

肺移植は他の臓器移植に比べて拒絶反応の抑制・治療が難しく、肺移植後の免疫抑制に使われるステロイド剤・カルシニューリン阻害剤の効果は上がっているものの、より有効

でかつ安全な免疫寛容誘導の方法が求められている。移植免疫では特にヘルパーT細胞の関与が大きく、CD4+ T細胞の機能の制御が拒絶反応の抑制につながると期待される。近年、TGF $\beta$

によって分化誘導される regulatory T 細胞 (Treg と略す) という新たな CD4+ T 細胞サブセットが同定された。この T 細胞サブセットは自己免疫機序を抑制し、臓器移植の分野でも Treg は免疫寛容誘導をもたらすのではないかと考えられている。さらに、より近年になって、Treg に拮抗する作用を有する新たな CD4+ T 細胞が発見された。その新たな T 細胞サブセットは、IL-17 を特異的に産生するため Th17 と命名された。(図 1)

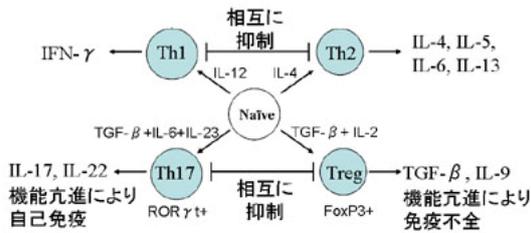


図1 CD4+ T細胞の分化と機能

Th17 は IL-6、TGF- $\beta$ 、IL-21 によって Naïve T 細胞から分化誘導され、IL-17 や IL-22 などの各種のサイトカインを通じて免疫活性を上昇させ、Treg を抑制し、自己免疫機序の発生に関与すると考えられている。したがって、Th17 を抑制することは Treg の活性につながり、臓器移植後の拒絶反応の抑制につながると期待される。

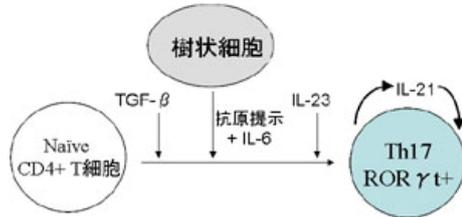


図2 Th17の分化

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、Th17 を抑制する方法を開発し、臓器移植の成績を控除誦させる新たな免疫抑制療法を開発するための基礎研究である。

## 3. 研究の方法

まず、肺移植の動物実験モデルと肺移植の臨床検体から得られる標本・検体をもとにして、肺移植後の拒絶反応・免疫寛容における Treg と Th17 の役割を明らかにする。その上で、肺移植後の免疫寛容誘導に適切な方法論を検討し、臨床応用可能な方法を確立する。

### (1) 臨床材料による検討

これまでの肺移植の臨床経験において得られてきた肺生検組織を用いて、拒絶反応のグレードと肺組織内の Treg と Th17 についての

retrospective な評価を行う。

### (2) 動物実験による検討

気管移植の動物実験モデルによって、移植グラフトの拒絶反応と肺組織における Treg と Th17 のバランス・サイトカイン産生を評価する。肺移植後の全身の免疫機能状態と Treg と Th17 の活性化との関係も評価する。

次に、IL-6 の中和抗体を用いて Th17 の分化を抑制し、Th17 細胞の分化の抑制と慢性拒絶の病理像である閉塞性細気管支炎の抑制が得られるかどうかを検証する。図 3 に気管移植モデルを示す。

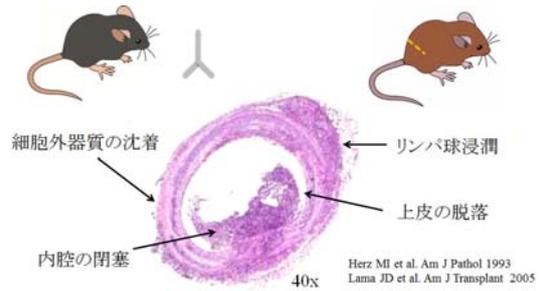


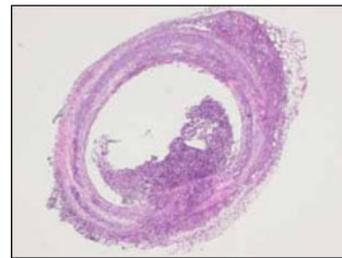
図3 気管移植モデルと閉塞性細気管支炎像

## 4. 研究成果

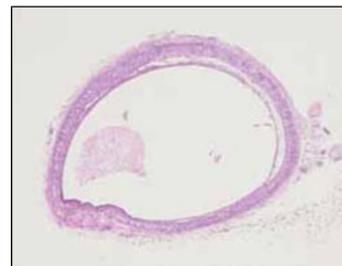
(1) 臨床検体において、慢性拒絶が認められる肺の政権の病理組織検索において、Th17 の存在が確認された。

(2) 動物実験での同系と Allo の系での気管移植の結果を図 4、図 5、図 6 に示す。

### 異系移植群



### 同系移植群(B6-B6)



40x

図4 気管移植モデルにおける細気管支炎像

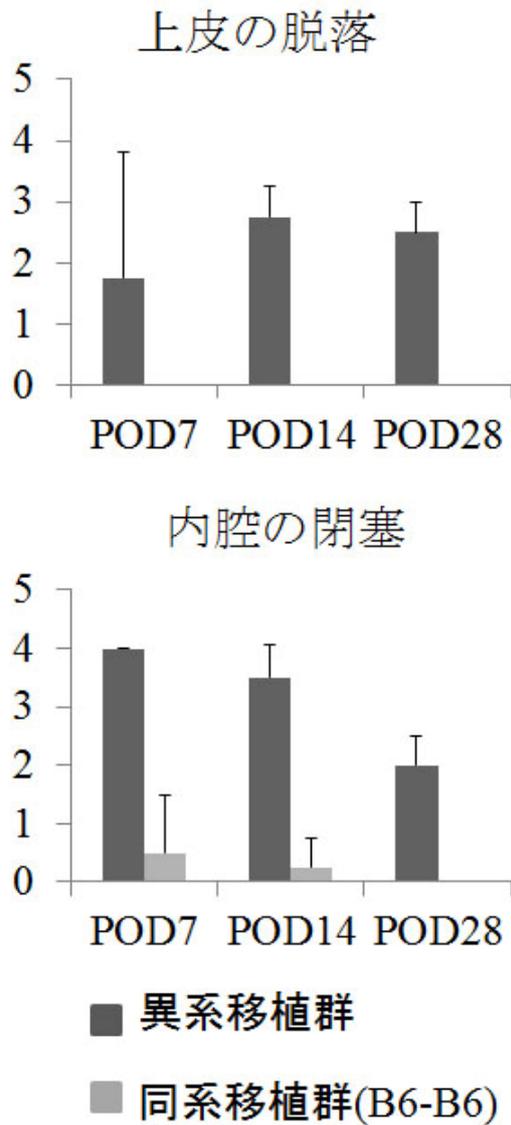


図5 気管移植モデルの組織学的評価

(3)気管 graft 内の IL-6 と IL-17 の mRNA を定量的 RT-PCR 法によって測定したところ、IL-6 と IL-17 の発現は異系移植群では同系移植群に比して有意に増加していた。図 7、図 8 に結果を示す。

グラフト内の IL-6 の発現の局在を免疫組織染色により検討したところ、集簇するリンパ球と血管内皮細胞における IL-6 の産生が確認された。図 9 に結果を示す。

一方、末梢血レベルでは、Allo の移植の系でも Th17 細胞の比率の上昇は認められなかった。

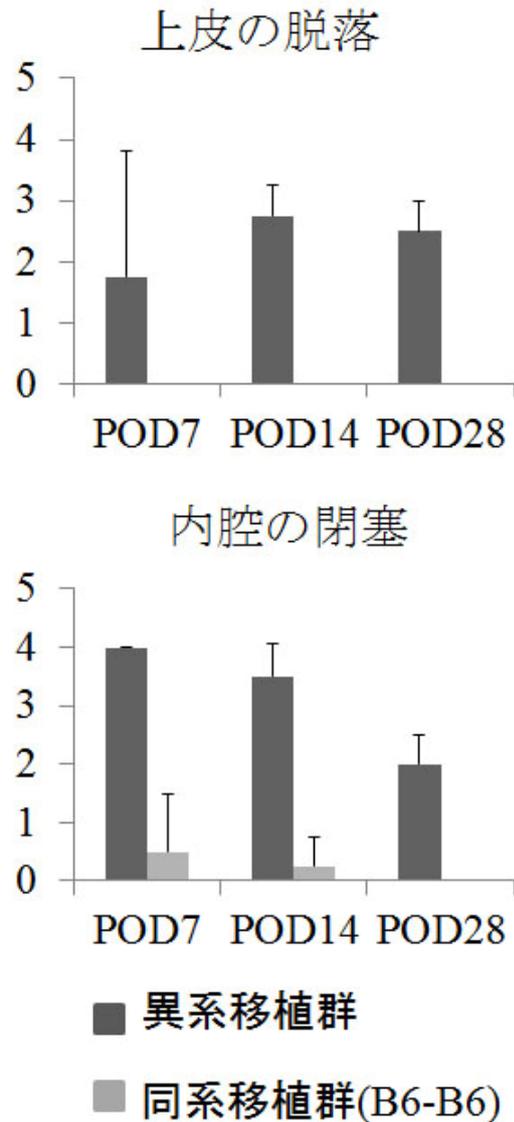


図6 気管移植モデルの組織学的評価

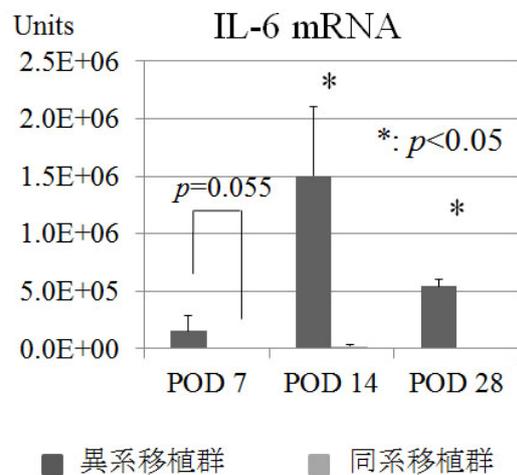


図7 移植片における IL-6 の発現

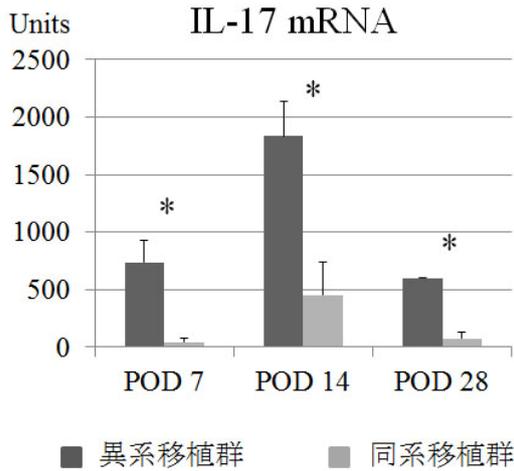


図 8 移植片における IL-17 の発現

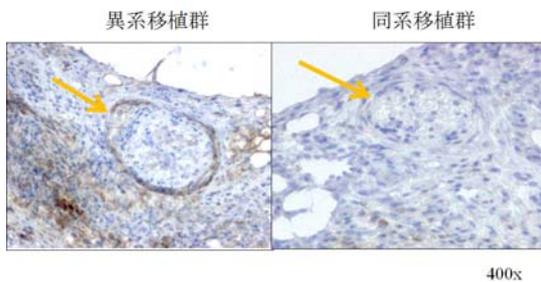


図 9 移植片における IL-6 の発現

(4) 気管移植モデルにおいて、抗 IL-6 中和抗体の全身投与による Th17 の分化抑制と拒絶反応の抑制が得られるかどうかを検討したところ、上記の B0 類似の局所の拒絶反応は軽減され、組織中の IL-17 の産生も有意に低下した。図 10 と図 11 に結果を示す。

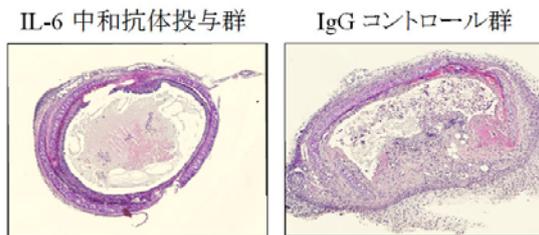


図 10 抗 IL-6 中和抗体による B0 の抑制

以上より、肺移植後の慢性拒絶である B0 の発症機序にはグラフトの局所での Th17 の関与が示され、IL-6 の制御が慢性拒絶の抑制に寄与することが示唆された。本研究の結果は、Transplantation 誌に掲載され (Transplantation 2010; 89: 1312-1319)、表紙にも引用された。

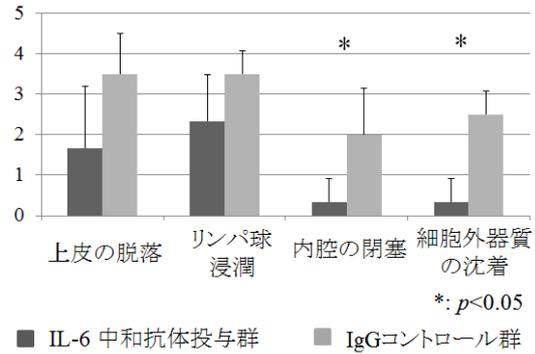


図 11 抗 IL-6 中和抗体による B0 の抑制

現在、引き続き、IL-6 の抑制による拒絶反応抑制の方法の確立を目指している。IL-6 の受容体からのシグナル伝達には、STAT3 が介在することが知られており、STAT3 は亜鉛イオンと結合すると conformation change をおこし、機能が障害されることが知られている。亜鉛投与をうけたマウスでは、STAT3 機能の抑制により、気管 graft の B0 変化がないことが証明されており、新たな免疫抑制療法の開発へつなげるべく研究を進めている。

#### 5. 主な発表論文等

(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 3 件)

- ① Inoue M.、Bilateral lung transplantation with closure of ventricular septal defect in a patient with Eisenmenger syndrome.、Gene Thorac Cardiovasc Surg、査読有、58 巻、(2010)、25-29
- ② 奥村明之進、肺移植における臨床検査、臨床病理レビュー、査読なし、145 巻、(2010)、90-94
- ③ 南正人、肺移植後急性期の血管合併症について、移植、査読なし、45 巻、(2010)、345-352

[学会発表] (計 5 件)

- ① 南正人、臓器移植法改正後の肺移植、移植学会メディアワークショップ、2010 年 11 月 24 日、東京

- ② 奥村明之進、脳死肺移植 本邦の現状世界との比較、第 98 回日本呼吸器学会東海地方学会、2010 年 11 月 13 日～14 日、三重県津市
- ③ 南正人、肺移植、第 4 回 PH 大会、2010 年 10 月 31 日、東京
- ④ 南正人、生体肺移植ドナーの保護-肺機能の温存をはかるための肺動脈形成の積極的適応-、第 46 回日本移植学会総会、2010 年 10 月 22 日、京都
- ⑤ 南正人、胸膜癒着が想定される症例への術式選択・術中管理について、第 27 回日本呼吸器外科学会総会、2010 年 5 月 13 日～14 日、宮城県仙台市

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

奥村 明之進 (OKUMURA MEINOSIN)  
大阪大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：4 0 2 5 2 6 4 7

### (2) 研究分担者

南 正人 (MINAMI MASATO)  
大阪大学・医学部付属病院・准教授  
研究者番号：1 0 2 4 0 8 4 7

井上 匡美 (INOUE MASAYOSI)  
大阪大学・医学系研究科・講師  
研究者番号：1 0 3 7 9 2 3 2

門田 嘉久 (KADOTA YOSIHISA)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号：5 0 4 6 4 2 4 3

竹田 潔 (TAKEDA KIYOSI)  
大阪大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：2 0 3 0 9 4 4 6

下記の者は、近畿中央胸部疾患センターに異動のため研究分担者を H22 年度に辞退

内海 朝喜 (UTUMI TOMOKI)  
大阪大学・医学系研究科・助教  
研究者番号：4 0 4 2 3 1 6 5

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：