

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592069

研究課題名(和文)心移植後の慢性拒絶反応(冠動脈硬化病変)発生機序解明に関する研究

研究課題名(英文)Analysis of chronic rejection (graft coronary arteriosclerosis) after heart transplantation

研究代表者

泉谷 裕則 (IZUTANI, Hironori)

愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90419200

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：心移植後の慢性拒絶反応として移植心に生じる冠動脈硬化病変の病因は不明である。ドナー/レシピエント間の組織不適合による免疫刺激により生じるがその機序も明らかでない。ラット異所性心移植冠動脈病変発生モデルにおいて、移植心を一定期間後に取り出して、ドナーと同系のラットに再移植し、以降の再移植心への免疫刺激を回避する「戻し移植」モデルを確立。これにより移植後5日目までの免疫反応が重要であること、特に細胞性免疫の関与が重要であることを示した。またこのモデルによる免疫応答、病理組織、分子生物学的解析などを検討し、病変発生に必要な免疫機序、特にT細胞やマクロファージの関与を確認した。

研究成果の概要(英文)：Graft coronary arteriosclerosis occurs as chronic rejection after heart transplantation. It is an unsolved lethal clinical issue for improving heart transplant outcome. However, the mechanism of the disease is still unknown. Using heterotopic rat heart transplantation and a retransplantation model, we showed that retransplantation of allografts back into the donor strain did not prevent graft arteriosclerosis if the grafts had resided in the primary recipient for up to five days. In the retransplantation model, CD4+ T cells and/or CD8+ T cells, or macrophage of first recipient rats in both combinations were eliminated by monoclonal antibodies, and we found that the administration of both anti-CD4 and anti-CD8 monoclonal antibodies or macrophage depletion reduced graft coronary arteriosclerosis and development. In conclusion, the T cell subsets, CD4+ T cell and CD8+ T cell and/or macrophage play a certain role in the induction of the graft coronary arteriosclerotic change.

研究分野：医学

キーワード：心臓移植 慢性拒絶反応 冠動脈硬化症 移植免疫

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 日本ででの心移植後の生存率は欧米の成績を上回るもので評価されるものである。しかし、心移植の生存率に関与する大きな問題として慢性期の冠動脈硬化様病変があげられる。心移植後6カ月を過ぎると冠動脈に動脈硬化様の病変が起こり心筋虚血により心不全に陥ることがある。心移植後の慢性拒絶反応と呼ばれ、移植後5年で20～30%の患者に発症すると考えられている。慢性拒絶反応の病因は今なお不明な点が多く、複数の因子が発症に関わっていると考えられている。

(2) こういった臨床上的の問題から、本病変の発生機序の解明と制御は移植医療の成績向上に寄与する重要なテーマである。本病変の発生機序に関する研究はラット等の小動物を用いた研究が多い。免疫学的、病理学的、分子生物学的な面からのアプローチによる研究が主体であり、通常の動脈硬化の研究と重複する面が多いが、断片的なデータのみでその全貌は明らかにされていない。臨床的には非常に重要なテーマであるにもかかわらず、日本では数施設で基礎的研究が行われているに過ぎない。基礎的研究においては確立されたモデルに乏しく発生機序解明には至っていない。しかし本病変は通常の動脈硬化と異なり、ドナー、レシピエント間の組織不適合による免疫反応により生じるため、病変発生までの初期に機序の違いがあると考えられる。

## 2. 研究の目的

(1) 心移植後の慢性拒絶反応として移植心に生じる冠動脈硬化病変は、その病因は今なお不明で複数の因子が発症に関わっていると考えられている。ドナー/レシピエント間の組織不適合による免疫刺激により生じるがその免

疫学的、病理学的機序は不明である。移植初期の免疫反応の期間をコントロールさせるために、ラット異所性心移植冠動脈病変発生モデルにおいて、移植心を一定期間後に取り出して、ドナーと同系のラットに再移植し、以降の再移植心への免疫刺激を回避することができる「戻し移植」モデルを作成する。このモデルによる免疫応答、病理組織、分子生物学的解析などを検討することにより、病変発生に必要な免疫機序について解明する。

(2) 本研究は特に移植後初期の免疫反応に着目し、本病変の発生機序解明に関する研究を実験的に行うことを目的としている。

## 3. 研究の方法

(1) ラット異所性心移植冠動脈病変発生モデルにおいて、移植心を一定期間後に取り出して、ドナーと同系のラットに再移植し、以降の再移植心への免疫刺激を回避することができる以下の「戻し移植」モデルを用いる。

ラット異所性心移植モデル(冠動脈病変モデル)ドナー/レシピエントminor mismatchによる心移植を行い、免疫抑制剤としてFK506の短期投与を行う。

「戻し移植」モデル移植3, 5, 7日後に移植心を摘出しドナーと同系レシピエントに再移植を行う。

再移植心の免疫、組織、分子生物学的解析

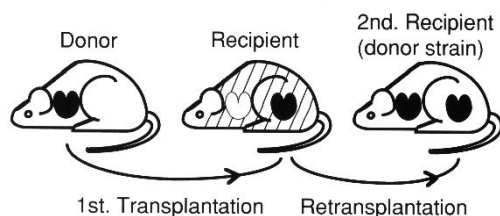
(2) ラット異所性心移植による「戻し移植」モデルを用いる。移植心の冠動脈病変発生には、細胞性免疫の重要性が考えられているが、詳細な免疫応答の関与について次のような実験を行う。レシピエントを抗CD4抗体、あるいは抗CD8抗体で処理した状態で病変の発生について検討する。またドナーにより特異的

に感作されたCD4陽性T細胞、あるいはCD8陽性T細胞をレシピエントに細胞移入することにより当該細胞の病変発生の機序について検討する。さらに抗原提示細胞としてのマクロファージの関与についても同様の細胞移入の検討を行う。免疫応答、病理組織、分子生物学的解析などにより、病変発生に必要な免疫機序について明らかにする。

#### 4. 研究成果

##### (1) 「戻し移植」モデル

ラット異所性心移植冠動脈病変発生モデルにおいて、移植心を一定期間後に取り出して、ドナーと同系のラットに再移植し、以降の再移植心への免疫刺激を回避することができるモデルを確立した。



移植後5および7日目に戻し移植を行った再移植心に冠動脈病変の発生を認めた。これにより移植後初期、特に5日目までの免疫反応が重要であることがわかった。この実験系で抗体が関与しなくても病変が発生すること、さらに細胞性免疫の関与が重要であることを示した。

(2) レシピエントの免疫応答を特異的に除去した状態での病変発生を検討した。

抗CD4抗体および抗CD8抗体の両方の投与により、移植心冠動脈病変の発生を抑制することができた。病変発生にT細胞の関与、特にCD4陽性T細胞、CD8陽性T細胞の両方の関与は示された。

レシピエントのマクロファージを除去することで、移植心冠動脈病変の発生を抑制することができた。病変発生にレシピエントのマクロファージの関与が強く示唆された。

##### <引用文献>

Tori M, Kitagawa-Sakakida S, Li Z, Izutani H, Horiguchi K, Ito T, Matsuda H, Shirakura R. Initial T-cell activation required for transplant vasculopathy in retransplanted rat cardiac allografts. *Transplantation*. 2000 Sep 15; 70(5):737-46.

Kitagawa-Sakakida S, Tori M, Li Z, Horiguchi K, Izutani H, Matsuda H, Shirakura R. Active cell migration in retransplanted rat cardiac allografts during the course of chronic rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2000 Jun; 19(6):584-90.

Izutani H, Miyagawa S, Shirakura R, Tanemura M, Mikata S, Nakata S, Matsuda H. Essential immunostimulation in graft coronary arteriosclerosis induction detected by retransplantation technique in rats: the participation of T cell subsets. *Transplant Immunol* 1997; 5:11-15.

Izutani H, Miyagawa S, Shirakura R, Tanemura M, Mikata S, K-Sakakida S, Fukushima N, Nakata S, Matsuda H. Recipient macrophage depletion reduces the severity of graft coronary arteriosclerosis in rat retransplantation model. *Transplant Proc* 1997; 29:861-862.

Izutani H, Miyagawa S, Shirakura R, Mikata S, Tanemura M, Fukushima N, Nakata

S, Matsuda H. Effect of recipient T cell subset depletion on graft coronary arteriosclerosis induction in rat return transplant model. Transplant Proc 1996; 28:1828-1829.

Izutani H, Miyagawa S, Shirakura R, Matsumiya G, Nakata S, Shimazaki Y, Matsuda H. Evidence that graft coronary arteriosclerosis begins in the early phase after transplantation and progresses without chronic immunoreaction; histopathological analysis using a retransplantation model. Transplantation 1995; 60:1073-1079.

Izutani H, Miyagawa S, Shirakura R, Tanemura M, Mikata S, K-Sakakida S, Fukushima N, Nakata S, Matsuda H. Recipient macrophage depletion reduces the severity of graft coronary arteriosclerosis in rat retransplantation model. Transplant Proc 1997; 29:861-862.

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計1件）

泉谷裕則、重症心不全患者に対しての補助人工心臓治療、愛媛医学、査読有、32巻、2013、97-101

〔学会発表〕（計0件）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕（計0件）

〔その他〕

ホームページ等 なし

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

泉谷 裕則 (IZUTANI, Hironori)

愛媛大学大学院医学系研究科・教授

研究者番号：9 0 4 1 9 2 0 0

(2)研究分担者

流郷 昌裕 (RYUGO, Masahiro)

愛媛大学大学院医学系研究科・講師

研究者番号：9 0 4 2 3 4 5 9

(平成26年4月14日まで)