

平成21年4月13日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590773

研究課題名（和文） Vanishing bile duct モデルマウスの開発

研究課題名（英文） Development of an animal model of the vanishing bile duct syndrome

研究代表者

大西 三朗（ONISHI SABUROU）

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：60136380

研究成果の概要：TRAILレセプターのdeath domainに対する単クローン性抗体は、腫瘍細胞特異的な細胞性免疫を惹起して、腫瘍細胞の排除を行う。しかし、副作用として時に胆管上皮細胞障害を誘発し慢性胆管炎に移行する。同様の免疫応答による慢性胆管肝炎はvanishing bile duct症候群として知られ、移植肝の急性および慢性拒絶反応の表現型である。TRAILレセプターのdeath domainにアミノ酸置換を伴う遺伝子多型がマウス存在することを見いだしたので、この抗原決定基に対する免疫応答が難治性の慢性胆管肝炎vanishing bile duct症候群を惹起する可能性があると考え、RT-PCRを用いて各種マウスstrainのTRAILレセプターのdeath domainにつき、遺伝子配列を決定した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：胆管炎、TRAIL、自己免疫、胆汁性肝硬変

## 1. 研究開始当初の背景

腫瘍細胞に対する免疫療法の旗手と期待されるTRAILレセプターのdeath domainに対する単クローン性抗体は、腫瘍細胞特異的な細胞性免疫を惹起して、腫瘍細胞の排除を行う。しかし、副作用として時に胆管上皮細胞障害を誘発し、慢性胆管炎に移行する。TRAILレセプターを標的とする免疫療法を臨床応用するにはこのような副作用を回避する方法を開発することが大切である。

同様の免疫応答による慢性胆管肝炎はvanishing bile duct症候群として知られ、

移植肝の急性および慢性拒絶反応の表現型である。我々はTRAILレセプターのdeath domainにアミノ酸置換を伴う遺伝子多型がマウス存在することを見いだしたので、この抗原決定基に対する免疫応答が難治性の慢性胆管肝炎vanishing bile duct症候群を惹起する可能性があると考え、このモデルを検討することによりTRAILレセプターを標的とする免疫療法を臨床応用する際に問題となる副作用を回避する方法を開発することを志した。

## 2. 研究の目的

TRAIL レセプターの death domain に対する monoclonal 抗体は、副作用として胆管炎を誘発する。私はこの障害を取り除くことにより癌の免疫治療に新たな道を開きたいと念願し、末梢血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞を用いて、正常の免疫応答を抑制することなく、自己免疫現象を選択的に抑制して胆管炎を沈静化させる方法を開発しようと計画を立案した。

## 3. 研究の方法

末梢血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞を用いて、正常の免疫応答を抑制することなく、TRAIL レセプターの death domain に対する免疫応答による胆管炎を沈静化させる方法を開発する。

- (1) TRAIL レセプターの death domain に対する monoclonal 抗体を用いて胆管炎を惹起する。
- (2) 末梢血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞を移入して上記胆管炎を軽減する。
- (3) TRAIL レセプターの death domain におけるアミノ酸置換を伴う遺伝子多型を検討する。
- (4) TRAIL レセプターの death domain に変異がある系を交配し、F1 に脾細胞を投与し、胆管病変を誘発する。
- (5) 上記の系に末梢血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞を移入して免疫応答の軽減を行う。
- (6) 上記系で T 細胞依存性抗体産生を検討し無処置群と免疫応答の強弱を比較する。

## 4. 研究成果

- (1) TRAIL レセプターの death domain に対する monoclonal 抗体を腹腔内投与すると胆管炎が惹起された。
- (2) 末梢血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞を移入したところ、上記胆管炎が軽減された。
- (3) TRAIL レセプターの death domain にアミノ酸置換を伴う遺伝子多型を検出した。
- (4) TRAIL レセプターの death domain に変異がある系を交配し、F1 に脾細胞を投与したところ、強い胆管病変が誘発された。
- (5) 上記免疫応答に対して、末梢血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞が抑制的に作用した。
- (6) (4) の系で T 細胞依存性抗体産生を検討したところ、無処置群と同等の抗体産生を確認することができ、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞による免疫調整能が示された。

## 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 8 件)

- ① Toda K, Okada T, Hayashi Y, Saibara T. Preserved tissue-structure of efferent ductules in aromatase

deficient mice. J Endocrinol 199:137-146, 2008 査読有り

- ② Enya M, Horikawa Y, Kuroda E, Yonemaru K, Tonooka N, Tomura H, Oda N, Yokoi N, Yamagata K, Shihara N, Iizuka K, Saibara T, Seino S, Takeda J: Mutations in the small heterodimer partner gene increase morbidity risk in Japanese type 2 diabetes patients. Human Mutat 29:E271-E277. 2008 査読有り
- ③ Hayashi Y, Toda K, Saibara T, Okamoto S, Osanai M, Enzan H, Lee GH. Expression of fascin-1, an actin-bundling protein, in migrating hepatoblasts during rat liver development. Cell Tissue Res. 334:219-226, 2008 査読有り
- ④ Dong H, Wang J, Li C, Hirose A, Nozaki Y, Takahashi M, Ono M, Akisawa N, Iwasaki S, Saibara T, Onishi S. The phosphatidyl ethanolamine N-methyltransferase gene V175M single nucleotide polymorphism confers the susceptibility to NASH in Japanese population. J Hepatol 46:915-920, 2007 査読有り
- ⑤ Kono M, Tatsumi K, Saibara T, Nakamura A, Tanabe N, Takiguchi Y, Kuriyama T. Obstructive sleep apnea syndrome is associated with some components of metabolic syndrome. Chest 131:1387-1392, 2007 査読有り
- ⑥ Hirose A, Ono M, Saibara T, Nozaki Y, Masuda K, Yoshioka A, Takahashi M, Akisawa N, Iwasaki S, Oben JA, Onishi S. Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits fibrosis in rat nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology 45:1375-81, 2007 査読有り
- ⑦ Iesato K, Tatsumi K, Saibara T, Nakamura A, Terada J, Tada Y, Sakao S, Tanabe N, Takiguchi Y, Kuriyama T. Decreased lipoprotein lipase in obstructive sleep apnea syndrome. Circ J 71:1293-1298, 2007 査読有り
- ⑧ Iwasaki S, Akisawa N, Saibara T, Onishi S. Fibrate for treatment of primary biliary cirrhosis. Hepatol Res 37(Suppl 3):S515- S517, 2007 査読有り

[学会発表] (計 8 件)

- ① Kuratani Y, Ichikawa H, Hirose A, Nozaki Y, Takahashi M, Iwasaki S, Saibara T, Onishi S. Secondary extrahepatic portal obstruction

- resulted from thrombus in splenic vein aneurysms. 7<sup>th</sup> Japan Society of Hepatology Single Topic Conference, September 29, 2008, Fukuoka
- ② Hirose A, Ono M, Saibara T, Nozaki Y, Takahashi M, Iwasaki S, Oben JA, Onishi S. Angiotensin II type 1 receptor blocker attenuates the progression of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). European Association for the Study of Liver Disease, April 24, 2008 Milan, Italy
- ③ Ono M, Kubota K, Hirose A, Nozaki Y, Takahashi M, Iwasaki S, Saibara T, Ogawa Y, Onishi S, Oben JA. Super-paramagnetic iron oxide-MRI: A novel technique in experimental liver studies shows defective Kupffer cell phagocytic function in human non alcoholic fatty liver disease. European Association for the Study of Liver Disease, April 24, 2008 Milan, Italy
- ④ Tokumitsu K, Ogasawara K, Maki M, Hirose A, Nozaki Y, Takahashi M, Ono M, Iwasaki S, Saibara T, Onishi S. Methionine-choline metabolism is involved in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. European Association for the Study of Liver Disease, April 24, 2008 Milan, Italy
- ⑤ Saibara T, Yoshioka A, Hirose A, Nozaki Y, Takahashi M, Ono M, Iwasaki S, Onishi S: The Cg2 gene A2217G single nucleotide polymorphism confers susceptibility to hepatocyte ballooning in NASH patients. Asia Pacific digestive week 2007, October 16, 2007 Kobe
- ⑥ Saibara T, Yoshioka A, Hirose A, Nozaki Y, Takahashi M, Ono M, Iwasaki S, Onishi S: The phosphatidylethanolamine N-methyltransferase gene V175M single nucleotide polymorphism confers the susceptibility to NASH in Japanese population, Asia Pacific digestive week 2007, October 16, 2007 Kobe
- ⑦ Saibara T, Ono M, Hirose A, Onishi S: Metabolic syndrome as the pathogenic background for the development of NASH, 17<sup>th</sup> Asia-Pacific Association for the Study of Liver Disease, March 30, 2007 Kyoto
- ⑧ Ono M, Hirose A, Saibara T, Nozaki Y, Masuda K, Yoshioka A, Takahashi M,

Akisawa N, Iwasaki S, Onishi S: Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits fibrosis in rats steatohepatitis, 17<sup>th</sup> Asia-Pacific Association for the Study of Liver Disease, March 30, 2007 Kyoto

〔図書〕(計 18 件)

- ① 西原利治: 医学書院、C型肝炎のベスト治療, 2009, 110-111 頁
- ② 西原利治: 医学書院、2009 今日の治療指針, 2009, 401-402 頁
- ③ 西原利治: 中外医学社、Annual Review 消化器 2009, 2009, 157-166 頁
- ④ 西原利治: 南江堂、消化器疾患 最新の治療, 2009, 310-312 頁
- ⑤ 西原利治、小野正文: 南山堂、病気と薬パーフェクトBOOK, 2008, 388-390 頁
- ⑥ 西原利治: 日本消化器病学会、第 94 回日本消化器病学会総会ポストグラジュエイトコース, 2008, 97-100 頁
- ⑦ 杜井峰、小笠原光成、植瑞希、廣瀬享、野崎靖子、小野正文、岩崎信二、西原利治、大西三朗: メディカルジャーナル社、酸化ストレスと肝疾患, 2008, 68-70 頁
- ⑧ 西原利治: 医学書院、肝疾患レジデントマニュアル, 2008, 337-345 頁
- ⑨ 西原利治、小野正文: 中外医学社、キーワードでわかるメタボリックシンドローム, 2008, 257-259 頁
- ⑩ 西原利治: 中外医学社、NASH診療best approach, 2008, 全 264 頁
- ⑪ 西原利治: 中外医学社、NASH診療ハンドブック, 2007, 全 165 頁
- ⑫ 西原利治: 中外医学社、Annual Review 消化器 2007, 2007, 152-158 頁
- ⑬ 西原利治: メジテース、薬剤師のための臨床講座, 2007, 50-52 頁
- ⑭ 西原利治: 永井書店、Dataで読み解く内科疾患, 2007, 361-366 頁
- ⑮ 西原利治、小野正文、大西三朗: 先端医療技術研究所、肝臓病の最新治療, 2007, 302-304 頁
- ⑯ 李春媚、小笠原光成、植瑞希、廣瀬享、野崎靖子、高橋昌也、小野正文、岩崎信二、西原利治、大西三朗: 東洋書店、アルコールと医学生物学, 2007, 209-212 頁
- ⑰ 西原利治、小野正文、大西三朗: 医薬ジャーナル社、肝硬変のマネジメント, 2007, 36-38 頁
- ⑱ 117. 西原利治、大西三朗: 文光堂、わかりやすい内科学, 2007, 634-638 頁

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大西 三朗 (ONISHI SABUROU)

高知大学・教育研究部医療学系・教授  
研究者番号：60136380

(2) 研究分担者

西原 利治 (SAIBARA TOSHIJI)  
高知大学・教育研究部医療学系・准教授  
研究者番号：60145125  
高橋 昌也 (TAKAHASHI MASAYA)  
高知大学・教育研究部医療学系・助教  
研究者番号：80380335