

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 17 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21791731

研究課題名（和文）新たに同定した肝類洞内皮細胞の B 細胞免疫制御機構の解明と抗体性拒絶制御法への展開

研究課題名（英文）A clarification of the mechanism that B cell tolerance induced by liver sinusoidal endothelial cells and application to the clinical treatment against humoral rejection.

研究代表者

五十嵐 友香（IGARASHI YUKA）

広島大学・大学院 医歯薬学総合研究科・研究員

研究者番号：10531692

研究成果の概要（和文）：血液型不適合移植において散見されている免疫寛容誘導のメカニズムを解明することを目的として研究を行った。

肝臓の類洞内皮細胞は糖鎖抗原を強く表出していることで糖鎖抗原応答性 B 細胞に対して免疫寛容誘導していることがわかり、この現象は PDL-1/PD-1 pathway が重要であることを明らかにした。この肝類洞内皮細胞の持つ抗原特異的 B 細胞に対する免疫寛容誘導能は世界で初めての報告である。

研究成果の概要（英文）：We have recently shown that B cells tolerance to donor blood group-A antigens develops following blood group A-to-O pediatric liver transplantation. Blood group antigen-reactive B cells might be tolerized through their interaction with liver sinusoidal endothelial cells (LSECs), which exclusively express blood group antigens together with PDL-1.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2009 年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 2010 年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2011 年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

研究分野：移植免疫、癌免疫

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・小児外科学

キーワード：移植・再生医療、糖鎖、免疫、外科、トランスレーショナルリサーチ

1. 研究開始当初の背景

類洞内皮細胞は拒絶反応のターゲットである。肝臓は免疫寛容が誘導されやすい臓器として知られているが、そのメカニズムは不明であった。そこで私たちは肝臓がどのような免疫能を持つのか細胞レベルで解析を行ってきた。

肝類洞内皮細胞 (Liver sinusoidal endothelial cell : LSEC) は非実質細胞の一つであり類洞内壁を構成し HLA 抗原や糖鎖抗原などを表出している。この類洞の構造から LSEC は循環リンパ球と一番初めにそして密接に接触し、シグナル伝達を得る。血液型不適合肝臓移植後はレシピエン

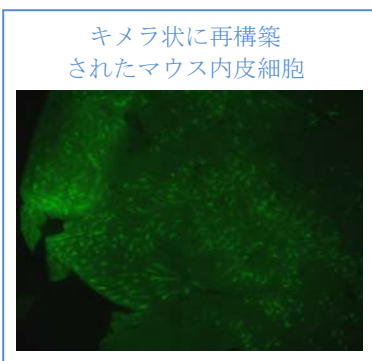
トリンパ球がグラフト内の LSEC 上に表出されている血液型糖鎖抗原を認識し LSEC を主とした免疫応答を惹起する。ところが小児肝移植などいくつかのケースにおいて免疫寛容が生じる場合が散見されており、私たちがこれまでに小児血液型不適合移植における血液型抗体特異的免疫寛容誘導について報告してきた。

2. 研究の目的

LSEC の研究を進めると実は LSEC 上には免疫応答を引き起こす抗原の表出だけではなく共抑制分子 (co-inhibitory molecule) が表出していることが明らかになった。これらを踏まえ私たちはこれまで LSEC が拒絶反応の主演であるという定説に反し、LSECこそがアロ免疫応答を寛容化し得るのではないかと考えた。共抑制分子としては Fas-FasL, PD-1-PDL-1 pathway などが知られている。これまでに私たちは LSEC がアロ応答性を示す T 細胞に対して Fas-FasL を介して選択的免疫抑制効果を発揮することを初めて見出しすでに報告している。これらの結果に基づいて B 細胞の抗体性免疫応答も肝臓内皮細胞が持つ免疫制御システムで免疫抑制誘導が可能ではないかと仮説を立てた。

3. 研究の方法

糖鎖抗原内皮キメラマウスモデルの確立：糖鎖抗原をターゲットとした動物モデルとして alpha-Gal 抗原に着目した。



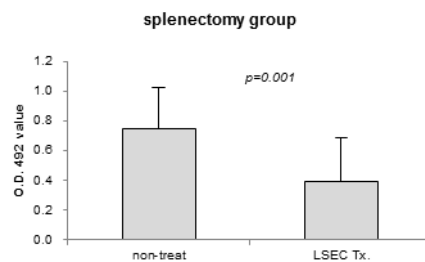
alpha-Gal 抗原は構造がヒト血液型抗原に酷似しており alpha-Gal 抗原陽性の野生型マウス (Wild mice/ B6 mice) と alpha-Gal 抗原発現が遺伝子的に欠損しているノックアウトマウス (Gal T KO mice/ B6 base) の組み合わせを用いた。糖鎖抗原の発現のみが異なった条件で B 細胞応答を観察できる優れたモデルである。

Wild mice の肝臓から alpha-Gal 抗原を表出している肝臓内皮細胞を alpha-Gal 抗原欠損 Gal T KO mice に対して経門脈的に移植し LSEC キメラマウス を作成した。この LSEC キメラマウスに対して alpha-Gal 抗原を強く発現しているウサギ赤血球で免疫した。

このモデルマウスの血清中抗体価や、骨髄細胞中の抗体産生細胞、腹腔内に存在する抗原特異的 Binding B 細胞を同定し、評価した。

4. 研究成果

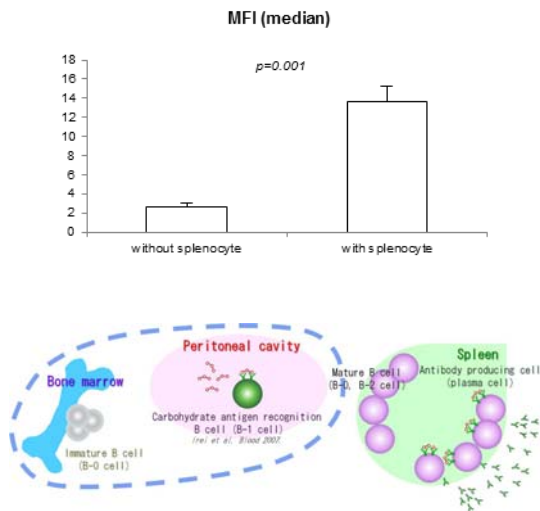
血液型糖鎖抗原に類似の alpha Gal antigen をもつ野生型マウスおよび同抗原が欠損しているノックアウトマウスを用い肝臓内皮キメラマウスモデルを確立した。作成したマウスに同抗原が強発現しているウサギ赤血球で免疫すると同抗原に対す



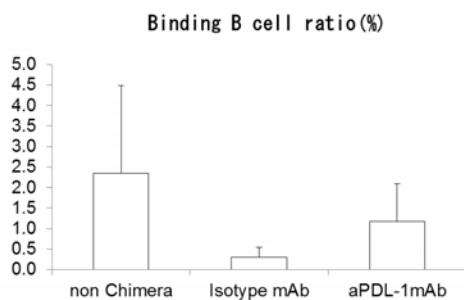
る抗体は肝臓内皮細胞非移入群では産生されたが移入群では優位に抑制された。

この肝臓内皮細胞の有する免疫寛容誘導能がどのような B 細胞に対して効果があるのかを調べるために次の検討を行った。肝臓内皮キメラマウスに対し放射線を照射し同系 syngeneic の骨髄細胞を移入した

群、および骨髄細胞と同時に脾細胞を移入したマウスを作成し同様の免疫実験を行った。すると骨髄移入群において抗体産生は抑制されていたが脾細胞移入群では抗体が産生されていた。この結果より肝類洞内皮細胞は骨髄より新規に出現してくるB細胞を特異的に寛容化するが成熟B細胞に対してはその効果は弱いことが証明された。



この肝類洞内皮細胞の寛容化メカニズムにはどのような分子が関与しているのか Fas ligand KO マウスや anti PDL-1 monoclonal antibodyを用いたブロックの検討を行ったところ、肝類洞内皮細胞がアロ応答性T細胞を免疫寛容誘導するのに必要なFas/Fas ligand pathwayは必須で



はなくPD-1/PDL-1 pathwayが重要であることがわかった。

今回の検討ではこのB細胞性免疫寛容に、血液型糖鎖抗原を発現した肝類洞内皮細胞が重要な役割を果たしていることを世界で

初めて明らかにした。

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0件)

[学会発表] (計6件)

1. 五十嵐友香, 肝類洞内皮細胞は PD-1/PDL-1 pathway を介して B 細胞の抗原特異的抗体産生を抑制する, 第 47 回日本移植学会総会, 2011. 10. 4-6, 仙台
2. 五十嵐友香, 糖鎖抗原を表出した肝類洞内皮細胞は PD-1/PDL-1 pathway を介して B 細胞の抗原特異的抗体産生を抑制できる, 第 29 回日本肝移植研究会, 2011. 7. 22-23, 仙台
3. 五十嵐友香, 肝類洞内皮細胞は PD-1/PDL-1 pathway を介して抗原特異的免疫寛容を誘導する, 第 18 回肝細胞研究会, 2011. 6. 24, 東京
4. Yuka Igarashi, Liver sinusoidal endothelial cells expressing carbohydrates render reactive immature B cells tolerant through PD-1/PDL-1 pathway. American Transplantation congress 2011. 4. 30-5. 4, Philadelphia. USA.
5. Yuka Igarashi, Toshimitu Irei, Hideki Ohdan. Liver Sinusoidal Endothelial Cells expressing Carbohydrates Render Reactive B cells Tolerant. XXIII International Congress of the transplantation. Vancouver. Canada. 2010. 8. 15-19.
6. Yuka Igarashi, Masataka Bansyodani, Toshimitu Irei, Yuka Tanaka, Hideki Ohdan. Liver Sinusoidal Endothelial Cells Tolerize B cells Specific for Blood Group Carbohydrate Antigens after ABO-incompatible Liver Transplantation. France, paris.

2009. 8. 30-9. 2.

〔図書〕(計 1 件)

1, 高橋公太、ABO 血液型不適合移植の新戦略
2011, p38-p43, 日本医学館, 総ページ 71.

〔その他〕

ホームページ等

該当無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

五十嵐 友香 (IGARASHI YUKA)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科

・研究員

研究者番号：10531692

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：