

令和元年6月3日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10648

研究課題名(和文) マウス腎移植モデルによる抗体関連型拒絶反応と抗CD20モノクローナル

研究課題名(英文) Anti-CD20 antibody and anti-TNF alpha antibody of kidney transplantation in a mouse model

研究代表者

石井 大輔 (ISHII, DAISUKE)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：10327413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：腎移植における長期生着のためには移植片に対する抗体産生の抑制および抗体関連型拒絶反応の治療が重要である。マウスでの抗体関連型拒絶反応モデルの作製とその治療における新規治療薬である抗CD20モノクローナル抗体と今抗炎症性TNFモノクローナル抗体を使用した免疫抑制の機序について解明することを目的としてマウス腎移植モデルの作製を検討したがマウス腎移植モデルの供給が安定せず免疫抑制の機序に関する検討が困難であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎移植後の抗体関連型拒絶反応は移植片廃絶の大きな要因として問題となっているが、いまだ明確な治療ガイドラインは存在せず、その動物実験モデルに関してもまだ確立されたものはない。今回我々はマウスにおける心臓、腎臓移植の抗体関連型拒絶反応モデルの作成とその拒絶反応に対する抗CD20モノクローナル抗体(Rituximab)による治療に関しての動物モデルを作成し、今後の抗体関連型拒絶反応の治療に対する機序の解明を目的としたが、動物モデルの安定した供給が困難であったため抗体を使用した検討ができておらず腎移植マウス作成方法に関して再考する必要があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：For long-term survival in renal transplantation, suppression of antibody production to the graft and treatment of antibody-related rejection are important. Preparation of antibody-related rejection model in mice and mouse kidney transplantation for the purpose of clarifying the mechanism of immunosuppression using anti-CD20 monoclonal antibody and anti-inflammatory TNF monoclonal antibody as novel therapeutic agents in the treatment. Although the model preparation was examined, the supply of the mouse kidney transplantation model was not stable, and it was difficult to study the mechanism of immunosuppression.

研究分野：腎移植

キーワード：腎移植 拒絶反応 マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦では新規透析導入患者は年間約3万人を数え年々増加傾向にある。末期腎不全の根治的治療は腎移植しかないのが現状であり多数の新規免疫抑制剤の登場により飛躍的にその成績は向上している。しかし短期の生着率に改善と比べると長期の生着率はまだ満足できる成績ではない。特に抗体関連型拒絶反応は移植片廃絶の大きな要因として問題となっており移植患者の約40%は5年以内に抗体関連型拒絶を経験されるとされるが細胞関連型拒絶反応に対する治療法に比べ抗体関連型拒絶反応にはいまだ明確な治療ガイドラインは存在せず、その動物実験モデルに関してもまだ確立されたものはない。近年、ABO血液型不適合移植に対して Malignant Lymphoma 治療に使用され抗 CD20 抗体を使用して脾摘を回避して B 細胞の活動を抑制し移植後の良好な成績をあげているが、その機序と効果に関しては未知の部分も多い。

2. 研究の目的

近年の免疫療法の進歩により術前の検査で臓器移植が不可能と判断されていた高感作レシピエント(ハイリスクレシピエント)への臓器移植が可能になってきている。本研究では血液型不適合移植および抗体関連型拒絶反応に使用されるようになった抗 CD20 モノクローナル抗体と今後拒絶反応に治療効果が期待される抗炎症性 TNF モノクローナル抗体の免疫抑制の機序について解明することを目的とした。

3. 研究の方法

1) マウスにおける腎移植モデルの作成

マウス腎移植モデルの作成は高度な技術が要求される。筆者は米国での基礎研究留学中にこの技術の習得に努力し安定した生着率を達成することが可能となった。マウスでの移植における研究は複雑なロックアウトモデルの使用が可能であり詳細な抗体関連拒絶モデルが研究可能となると考えられる。

2) マウス腎移植の抗体関連型拒絶反応の検討

抗体関連型拒絶反応は確立された治療法がないため更なる動物モデルでの基礎研究が必要である。2004年に報告された方法(文献3)によって移植片の組織浸潤をフローサイトメトリーによって定量的に測定することが可能となっている。この方法を用いて組織浸潤細胞の測定をおこない免疫染色と併せて抗体関連型拒絶反応の病理学的検討をおこなうことが出来ると期待される。

3) 抗 CD20 モノクローナル抗体の投与による移植片の生着率の検討

抗体関連型拒絶反応に対してリツキシマブを投与することによりB細胞の減少とそれに伴う拒絶反応の減弱、移植片の生着延長が期待される。現在、臨床での投与では ABO 血液型不適合臓器移植におけるリツキシマブの有効期間は不詳であり投与後の抗 HLA 抗体の推移も明らかになっていない点が多い。本研究において臓器移植におけるリツキシマブのマウスに対する効果や抗ドナー抗体の推移が明らかになることが期待され、臨床での適応の検討につながると予想される。

4) 抗 TNF 抗体投与による移植片の生着率の検討

抗体関連型拒絶反応モデルでは炎症性サイトカインである TNF の発現の上昇が認められ(文献4)拒絶反応初期のサイトカインである TNF の発現を低下させることでその後の拒絶反応の連鎖を減弱されると考えられている。この効果をマウス腎移植モデルを使用し検討する。

4. 研究成果

マウスモデルによる腎臓移植後の生着期間の観察、拒絶移植片の病理学的解析および抗 CD20 モノクローナル抗体および抗 TNF α 抗体の投与による生着期間の延長確認し投与方法や投与後の抗ドナー抗体の経時的変化を観察することにより効果的な使用方法と免疫細胞の浸潤等やB細胞による液性拒絶以外の抗原提示細胞能力の減弱による移植片の拒絶および生着延長効果の解析を行うことを目的として移植モデルの手術手技確立をおこなっている。実験の基本モデルの手術手技はマウスの左腎臓を大動脈とともに en-block に摘出し、レシピエントの左腎摘出後に腹部大動脈と下大静脈に吻合をおこない1週間後に対側腎の摘出をおこない生存を確認することで生着とし、A/J マウス(H-2a)から C57BL/6(H-2b)マウスへの MHC Full-Mismatch の腎移植をおこなう。A/J マウスから C57BL/6/CCR5-/-マウスへの腎移植をおこない抗体関連型拒絶が腎移植モデルでの確認ができないようであれば心臓移植モデルへの変更を考慮するとしていたが、腎臓の移植手技が安定しておらず手技の確立を目指したが手技の安定には一定の手術を定期的に行う必要があるが、手術に費やせる時間が難しく手技が安定せず腎移植モデルの安定した作製が困難であり設定期間内の研究の遂行が困難であり動物モデルの作成方法の再考が必要であった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

1. Efficacy and safety of sunitinib in elderly patients with advanced renal cell carcinoma.

Fujita T, Hirayama T, Ishii D, Matsumoto K, Yoshida K, Iwamura M.

Mol Clin Oncol. 2018 Oct;9(4):394-398. doi: 10.3892/mco.2018.1684.査読あり

2. Robot-assisted laparoscopic radical cystectomy is a safe and effective procedure for patients with bladder cancer compared to laparoscopic and open surgery: Perioperative outcomes of a single-center experience.

Matsumoto K, Tabata KI, Hirayama T, Shimura S, Nishi M, Ishii D, Fujita T, Iwamura M.

Asian J Surg. 2019 Jan;42(1):189-196. doi: 10.1016/j.asjsur.2017.11.002. 査読あり

3. Prognostic effect of serum C-reactive protein kinetics on advanced renal cell carcinoma treated with sunitinib.

Fujita T, Tabata KI, Ishii D, Matsumoto K, Yoshida K, Iwamura M.

Mol Clin Oncol. 2017 May;6(5):691-696. doi: 10.3892/mco.2017.1201.査読あり

4. Effect of Lymphadenectomy During Radical Nephroureterectomy in Locally Advanced Upper Tract Urothelial Carcinoma.

Ikeda M, Matsumoto K, Sakaguchi K, Ishii D, Tabata KI, Kurosawa K, Urakami S, Okaneya T, Iwamura M.

Clin Genitourin Cancer. 2017 Oct;15(5):556-562. doi: 10.1016/j.clgc.2017.04.004.査読あり

〔学会発表〕(計5件)

石井大輔 綿貫翔 天野統之 志村壮一郎 遠藤忠雄 岩村正嗣 澤田彩 竹内康雄 吉田一成

当院での導入期エベロリムス併用プロトコールの検討

第54回日本移植学会 2018

澤田彩、石井大輔、西山景子、綿貫翔、天野統之、志村壮一郎、岩村正嗣 竹内康雄、鎌田浩稔、吉田一成

腎移植後の腹腔内 PTLD2 例

第29回神奈川移植医学会 2018

石井大輔、天野統之、立花貴史、志村壮一郎、野口文乃、岩村正嗣、竹内和博、竹内康雄、吉田一成、佐々木秀郎、力石辰也

移植後早期に動脈閉塞を来した生体間腎移植症例の経験

第34回腎移植・血管外科研究会 2018

石井大輔、綿貫翔、志村壮一郎、天野統之、岩村正嗣、鎌田浩稔、筒井敦子、吉田一成
小腸穿孔により腸切除を要した腎移植後小腸原発 PTLD の一例

第27回腎不全外科研究会 2018

石井大輔、天野統之、立花貴史、川村瑞穂、平山貴博、藤田哲夫、岩村正嗣、吉田一成
当院の先行的腎移植と短期透析後腎移植の検討

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：吉田 一成

ローマ字氏名：YOSHIDA KAZUNARI

所属研究機関名：北里大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：10174921

研究分担者氏名：川村 瑞穂

ローマ字氏名：KAWAMURA MIZUHO

所属研究機関名：北里大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号 (8 桁)：20623135

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：