

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11202

研究課題名(和文)臓器移植後移植片拒絶反応におけるHSP90の役割の解明および新規治療の開発

研究課題名(英文)Elucidation of role for HSP90 in allograft rejection after solid organ transplantation and development of novel treatment strategy

研究代表者

田中 俊明(Tanaka, Toshiaki)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：50398327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：マウス異所性心移植モデルにおいて、HSP90阻害剤・17DMAGの投与により移植免疫応答抑制および生着延長効果、移植片のHLA class I分子発現の抑制が認められた。さらに17DMAGの移植片灌流のみでも同等の拒絶反応の抑制および生着延長効果が認められた。移植片でのサイトカイン分泌抑制が認められ、獲得免疫応答を抑制していると考えられた。また移植片の老化細胞除去効果も有することが示唆された。また腎移植における尿中HSP90濃度と拒絶反応の関係を解析するため、15症例より25検体を採取した。今後解析予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臓器移植における現在の課題として、ドナー不足、抗体関連型拒絶反応、免疫抑制剤による副作用などが挙げられる。HSP90を標的とした新たな免疫抑制療法の開発は、既存の免疫抑制剤の減量を可能にし、これが副作用の軽減に繋がると考えられる。また、薬剤による移植片灌流は、副作用などレシピエントへの影響が少ないものと考えられ、安全性が高いと考えられる。この処理により、高齢ドナーや高リスクドナーからの移植片の質を改善させる可能性が示されており、ドナーソースの拡大、さらには臓器移植成績の改善に寄与することが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Administration of an HSP90 inhibitor to recipients inhibit the alloimmune response and prolonged the allograft survival in murine heart transplantation. HLA class I expression was suppressed in the graft by the treatment. Furthermore, preconditioning of a graft with 17DMAG equivalently prolonged the allograft survival. Expression of IL-2 and IL-12b in the graft was suppressed, suggesting that 17DMAG preconditioning suppress the adaptive immune response, leading to inhibition of acute allograft rejection. An additional study suggested that 17DMAG preconditioning also had senolytic effect in the graft. Preconditioning of the graft targeting HSP90 may be a promising strategy in solid organ transplantation. In addition, we have collected 25 serum and urine samples from 15 kidney recipients to assess association between serum or urine HSP concentration and allograft rejection although the result has not been analyzed.

研究分野：移植免疫

キーワード：臓器移植 移植免疫 ストレス応答

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Heat shock protein 90(HSP90)は細胞内タンパク輸送に関わる分子シャペロンの一つであり、腫瘍細胞で高発現し細胞内増殖シグナル伝達への関与や、自然免疫応答において抗原クロスプレゼンテーションに関与すること明らかにされている。さらに本学病理学教室において自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)の患者血清中の HSP90 濃度が高値であること、治療後にこの値が低下すること、さらに SLE 動物モデルにて HSP90 阻害剤が病勢の進行を抑制することを明らかにした。申請者は HSP90 が免疫応答にも深く関与するということから、臓器移植における免疫応答にも HSP90 が関与するものと推察し、腎移植患者において血清 HSP90 濃度が急性拒絶反応のバイオマーカーとなることを報告した。さらに、HSP90 が臓器移植片拒絶反応の治療標的となる可能性につき検討し、HSP90 阻害剤 17DMAG はマウス同種皮膚移植において免疫応答を抑制し、移植片拒絶反応抑制効果を持つことを明らかとした。また、血管内皮細胞を用いた *in vitro* の抗体関連型拒絶反応モデルにおいて、17DMAG は血管内皮細胞の HLA class I 発現を抑制し、また血管内皮細胞増殖抑制効果があることを示した。

腎移植における拒絶反応は、免疫抑制療法の改良により、近年その頻度は低下しつつある。しかし現在も、特に抗 HLA 抗体が関与した急性および慢性の抗体関連拒絶反応はしばしば発生し、治療が極めて困難である。中でも慢性抗体関連拒絶反応を含む慢性拒絶反応は、現在移植腎機能喪失の主な原因となっている。これらの拒絶反応に対する治療法の確立は、腎移植の成績をさらに向上させるための最も重要な課題であると考えられている。

2. 研究の目的

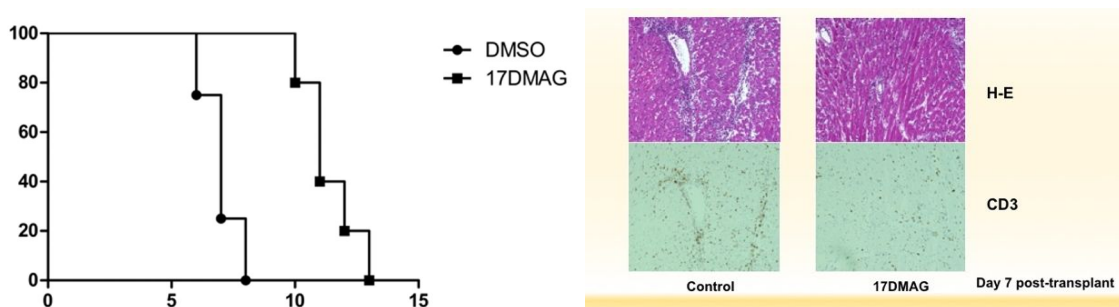
研究は同種臓器移植・移植片拒絶反応における HSP90 の関与についてその機序を明らかにすると共に、その阻害剤の治療薬としての可能性につき検証するが目的である。

3. 研究の方法

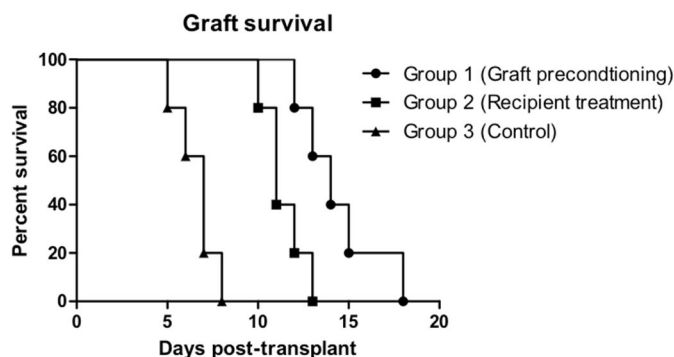
マウス心移植および腎移植モデルを用い、主に臓器移植動物モデルにおける移植片拒絶反応における HSP90 の関与について分析する。合わせて、臨床検体を用いて腎移植後拒絶反応と HSP90 発現の関連について検討する。

4. 研究成果

(1)マウス異所性心移植モデルにおいて、HSP90 阻害剤・17DMAG 投与による移植片拒絶抑制効果を検討した。17DMAG 投与により有意に移植片生着期間が延長した。免疫細胞浸潤の抑制、T cell によるドナー特異的 IFN 産生の抑制が認められ、移植片免疫応答が抑制されていることが示された。また、17DMAG 投与により移植片での HLA class I 分子の発現抑制を認めた。

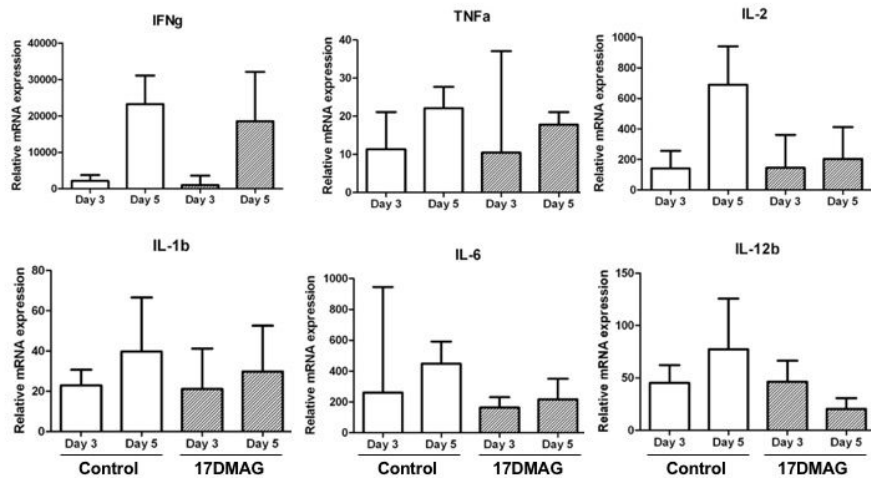
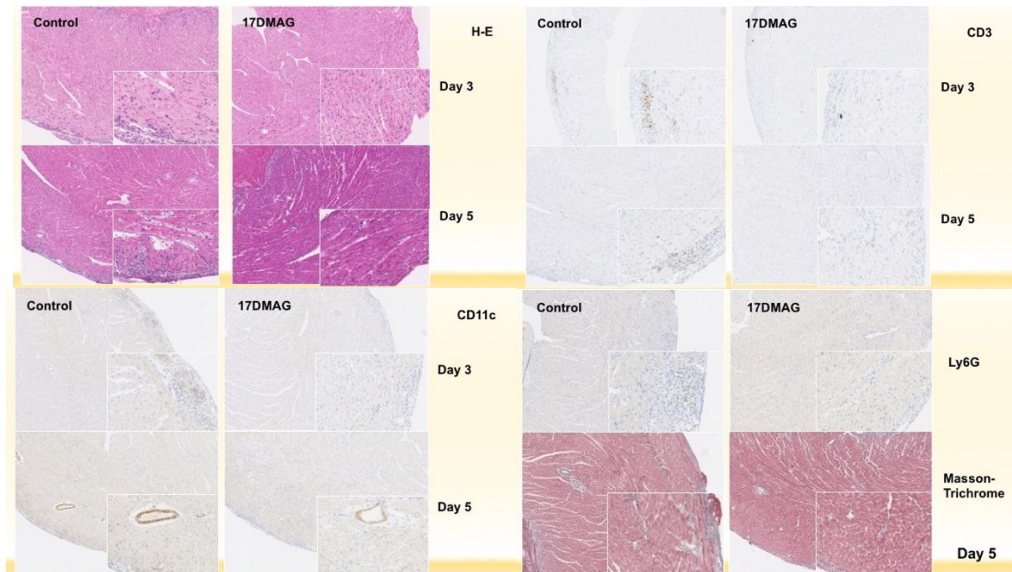


(2)(1)の所見から、17DMAG 投与が移植片の抗原発現に影響する可能性を考えた。同モデルにおいて、移植片を 17DMAG で還流した後に移植し、生着期間を確認したところ、(1)と同等の生着期間延長効果が認められた。

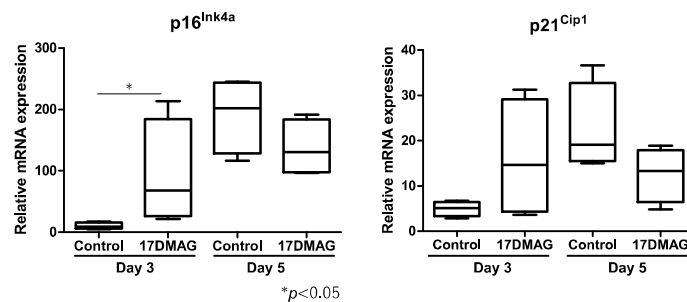


移植片における CD3, CD11c, Ly6G 陽性細胞浸潤の抑制が認められ、また線維化の抑制も認められた。さらにサイトカイン・IL-2、IL-12b の発現抑制も見られ、移植免疫応答が抑制されてい

ることが示唆された。



さらに、17DMAG 灌流により、移植片のサイクリン依存性キナーゼである p16^{Ink4a} mRNA および p21^{Cip1} mRNA の発現抑制効果が見られ、老化細胞除去効果が生着延長に關与している可能性が示唆された。



この結果、所見は研究開始時点では予想していなかったものである。移植片灌流処理は、薬剤をレシピエントに直接投与をおこなわないため、安全性は高いものと考えられる。この方法で臨床効果を有する薬剤を見出すことは、臓器移植における新たな治療戦略となり、臨床応用に結び着く可能性が高いものと期待される。

(3)腎移植における尿中 HSP90 濃度と拒絶反応の関係を解析するため、腎移植患者 15 症例より血液/尿 25 検体を採取した。現在組み入れた症例においては拒絶反応が発生しておらず、現時点で解析ができていない。今後症例を蓄積し、また観察期間を延長し、解析をおこなう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 田中 俊明	4. 巻 35
2. 論文標題 臓器移植におけるHSP90の役割	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 65-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Toshiaki Tanaka
2. 発表標題 Graft perfusion with alvespimycin, an HSP90 inhibitor, suppresses acute allograft rejection and prolongs graft survival in murine heart transplantation
3. 学会等名 American Transplant Congress 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中俊明
2. 発表標題 マウス同種心移植におけるHSP90阻害剤グラフト灌流の治療効果
3. 学会等名 第54回日本移植学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Toshiaki Tanaka
2. 発表標題 Graft perfusion with alvespimycin, an HSP90 inhibitor, suppresses IL-2 and IL-12b production in graft-infiltrating cells, leading to prolongation of graft survival in murine heart transplantation.
3. 学会等名 American Transplant Congress 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshiaki Tanaka
2. 発表標題 Inhibition of heat shock protein 90 suppresses the expression of MHC class I molecules, but not MHC class II molecules, on endothelial cells in allografts
3. 学会等名 American Transplant Congress 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中俊明
2. 発表標題 腎移植拒絶反応におけるheat shock protein 90の関与
3. 学会等名 第53回日本移植学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中俊明
2. 発表標題 HSP90阻害剤・alvespimycinのグラフト灌流によるマウス心移植生着延長効果の機序の解析
3. 学会等名 第55回日本移植学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----