

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16306

研究課題名(和文) 骨髄由来免疫抑制細胞を用いた肝移植後免疫寛容誘導戦略

研究課題名(英文) The strategy for induction of immunotolerance in liver transplantation using myeloid-derived suppressor cells

研究代表者

濱口 雄平 (Hamaguchi, Yuhei)

京都大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：10793078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではラット強拒絶モデル(DAラットからLewラットへの移植)への薬剤投与の有無による拒絶群と薬剤投与群(免疫寛容群)の比較検討によって肝移植における骨髄由来免疫抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cells; MDSCs)の免疫抑制機構のメカニズムの解明およびMDSCsを用いた細胞療法による免疫寛容誘導効果を検討することを目的として遂行された。免疫寛容群において血液および脾臓、骨髄でMDSCsが誘導され、グラフト肝内にもMDSCsが誘導されていることが示された。また磁性細胞分離を用いて分離したMDSC細胞療法にてレシピエントの生存期間の延長を示すことが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

移植医療において移植臓器に対する宿主の拒絶反応は重要な問題である。免疫抑制剤を使用せずとも拒絶反応を起こすことなく、移植臓器が生着する免疫寛容は理想的な状態であるが拒絶反応の制御は免疫抑制剤に頼っているのが現状である。本研究ではラット肝移植モデルを用いて免疫寛容群において骨髄由来免疫抑制細胞(MDSCs)が誘導されていること、MDSCsを用いた細胞療法によって拒絶反応を抑制することが示された。今後免疫寛容誘導のメカニズムの解明ならびに免疫誘導療法の開発によって免疫抑制剤服用に伴う問題が回避され、また医療費の軽減につながるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we investigated the immunosuppressive mechanism of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) by comparing rejection groups and immunotolerance groups in the rat liver transplantation model and examined the effect of cell therapy using MDSCs. First, the median survival time of this model was 10 days, but the survival time of 100 days or more was obtained by the administration of tacrolimus, which was considered to be an ideal tolerance model. Next, it was shown that MDSCs were induced in blood, spleen, and bone marrow in tolerance groups, and also in the graft liver. In addition, the cell therapy of MDSCs separated by magnetic cell separation extended the survival time of recipients in this model.

This study shows that MDSCs contribute to immunosuppression in liver transplantation and that the cell therapy reduced rejection.

研究分野：肝移植

キーワード：免疫寛容 骨髄由来免疫抑制細胞 移植医療 肝移植 外科 ラット

## 1. 研究開始当初の背景

移植医療において移植臓器に対する宿主の拒絶反応は重要な問題であり、その制御は重要である。免疫抑制剤を使用せずとも拒絶反応を起こすことなく、移植臓器が生着する免疫寛容は理想的な状態であるが拒絶反応の制御は免疫抑制剤に頼っているのが現状である。免疫抑制剤の開発・発展により臓器移植の成績は飛躍的に向上してきたが短期的成績の向上に比して長期成績はまだ満足できるものではない。免疫抑制剤の使用によって生じる感染症や悪性腫瘍のリスクや免疫抑制剤自体による腎障害や神経障害、高血圧、糖尿病などの副作用の問題および現在の免疫抑制剤では制御出来ない慢性拒絶の問題など克服すべき問題がある。また生涯に渡って高価な免疫抑制剤の内服を必要とすることから医療経済的の面においても大きな問題である。

一方、担癌患者における腫瘍に対する免疫抑制状態は古くから知られ、研究されてきた。このような腫瘍免疫の研究のなかで腫瘍組織、リンパ節や末梢血に増加する未熟な骨髄細胞で免疫抑制活性を示す骨髄由来免疫抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cells)が報告され、制御性 T 細胞と並び免疫調整において重要な役割を担っていると考えられている。近年では腫瘍免疫のみでなく、細菌・寄生虫感染や急性・慢性炎症、外傷性ストレス、自己免疫疾患でもその役割が報告されている。移植領域では腎移植や心移植、皮膚移植において MDSCs に関する報告がみられるが、肝移植に関する MDSCs の役割は現在のところ明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

MDSCs は制御性 T 細胞の誘導効果を有すること、骨髄系免疫細胞は自然免疫のみならず抗原提示機能による獲得免疫系への関与も有することから、肝移植領域における免疫寛容の誘導機序においてより早期の段階での関わり、その後の免疫寛容の維持機構においても関与している可能性が考えられる。しかしながら肝移植領域における MDSCs を用いた細胞療法による免疫寛容や抑制がなされるのか、また surgical tolerance においていかにして免疫寛容が誘導されていくのか、免疫寛容の維持機構はいかにしてなされているのかについてはまだ明らかではない。

本研究ではラット肝移植モデルを用いて肝移植における MDSCs の免疫抑制機構のメカニズムの解明および MDSCs を用いた細胞療法による免疫寛容を誘導すること、また実臨床における移植後妊娠患者の末梢血を用いて、妊娠中の MDSCs の役割を解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

ラット強拒絶全移植モデル(DA ラットから Lew ラットへの移植)およびラット非拒絶全肝移植モデル(Lew ラットから Lew ラットへの移植)を用いて①PBS-treated 群 薬剤投与群(FK 群) 非拒絶群(syngeneic 群)を設定する。術後 7 日目の血液、脾臓、骨髄から作成した細胞浮遊液を細胞表面マーカーによって同定し、各群における細胞割合、細胞数を MDSCs および単球系、顆粒球系のサブセット解析を行う。また磁性細胞分離あるいはフローサイトメトリーによるソーティングにて MDSCs を分離し、T 細胞の免疫抑制活性を検討する。肝臓では移植後の虚血再灌流障害・肝再生への影響や

MDSCs の局在に関する検討を行う。また、分離してきた MDSCs を新たなラット強拒絶全肝移植モデルのレシピエントの手術時において①経静脈的投与群 経門脈的投与群 経肝動脈的投与群と投与方法を変え、生存期間を比較検討する。なお、至適細胞投与量やサブセット別（骨髄系、顆粒球系）での細胞療法による生存への影響についても検討する。

#### 4 . 研究成果

本研究ではラット強拒絶モデル（DA ラットから Lew ラットへの移植）への薬剤投与の有無による拒絶群と薬剤投与群（免疫寛容群）の比較検討によって肝移植における骨髄由来免疫抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cells; MDSCs)の免疫抑制機構のメカニズムの解明および MDSCs を用いた細胞療法による免疫寛容誘導効果を検討することを目的として遂行された。これにより以下のような成果を得られた。まず安定したラット強拒絶モデルを確立し、その病態・機構の解析を行った。このモデルの中央生存期間は10日間であるが tacrolimus の投与によって100日以上生存期間が得られ、理想的な免疫寛容モデルと考えられた。次に免疫寛容群において血液および脾臓、骨髄でMDSCs が誘導され、グラフト肝内にも MDSCs が誘導されていることが示された。また磁性細胞分離を用いて分離した MDSC 細胞療法にてレシピエントの生存期間の延長を示すことが出来た。

移植臓器に対する拒絶反応は重要な問題であり、現在の移植医療においては免疫抑制剤に頼っているのが現状であるが本研究によって肝移植において MDSCs の免疫抑制への寄与と MDSCs を用いた細胞療法によって臓器拒絶を軽減することが出来た。しかしながら免疫寛容に至るほどの効果は得られておらず、今後、更なる至適細胞投与量の検討やサブセット別（骨髄系、顆粒球系）での細胞療法による生存への影響に関する検討そして肝移植における自然免疫系から獲得免疫系における MDSCs の関与についての研究推進によって免疫寛容誘導のメカニズムの解明ならびに免疫誘導療法の開発へとつながる重要なものと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----