

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17260

研究課題名(和文) ラット腎移植モデルを用いた抗体関連型拒絶反応における制御性T細胞の意義の解明

研究課題名(英文) Evaluation of regulatory T cells in antibody mediated rejection using a rat kidney transplant model.

研究代表者

勝俣 陽貴 (Katsumata, Haruki)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：80846246

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)：本研究は腎移植後の慢性抗体関連型拒絶反応において制御性T細胞が治療対象となりうることに着目し、抗体関連型拒絶反応における制御性T細胞の役割、誘導機序を解明することを目的とした。組織内への誘導時に関与するケモカインレセプターや制御性T細胞の経時的変化を観察するため、ラット腎移植抗体関連型拒絶反応モデルを用いた。非感作状態のラットへの腎移植モデルを用い、7日時点で摘出した移植腎を病理組織学的に評価した。傍尿細管毛細血管や糸球体への炎症細胞の侵入、補体(C4d)の沈着を確認した。血清の抗ドナー特異抗体はフローサイトメリーにより確認した。しかし、免疫染色によるケモカインレセプターの評価は困難であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、腎移植後の抗体関連型拒絶反応の発症機序の解明がより深まり、診断や治療への応用が可能になると考えられた。

研究成果の概要(英文)：This study aims to elucidate the role and induction mechanism of regulatory T cells in antibody-mediated rejection. and In order to observe the time-dependent changes in chemokine receptors and regulatory T cells involved in tissue induction, we used a rat renal transplantation antibody-associated rejection model. Using a model of kidney transplantation into non-sensitized rats, the transplanted kidneys removed at day 7 were evaluated histopathologically. Infiltration of inflammatory cells into peritubular capillaries and glomeruli and deposition of complement (C4d) were confirmed. Anti-donor specific antibodies in sera were confirmed by flow cytometry. However, evaluation of chemokine receptors by immunostaining has been difficult.

研究分野：腎移植

キーワード：腎移植 制御性T細胞 抗体関連型拒絶反応 ラット腎移植

## < 研究実績の概要 >

### 1. 研究種目

若手研究

### 2. 課題番号

20K17260

### 3. 研究課題名

ラット腎移植モデルを用いた抗体関連型拒絶反応における制御性 T 細胞の意義の解明

Evaluation of regulatory T cells in antibody mediated rejection using a rat kidney transplant model.

### 4. 補助事業期間

2020 年 ~ 2022 年

### 5. 研究実績の概要

本研究は腎移植後の慢性抗体関連型拒絶反応において制御性 T 細胞が治療対象となりうることに着目し、抗体関連型拒絶反応における制御性 T 細胞の役割、誘導機序を解明することを目的とした。組織内への誘導時に関与するケモカインレセプターや制御性 T 細胞の経時的变化を観察するため、ラット腎移植抗体関連型拒絶反応モデルを用いた。非感作状態のラットへの腎移植モデルを用い、7 日時点で摘出した移植腎を病理組織学的に評価した。傍尿細管毛細血管や糸球体への炎症細胞の侵入、補体(C4d)の沈着を確認した。血清の抗ドナー特異抗体はフローサイトメリーにより確認した。しかし、免疫染色によるケモカインレセプターの評価は困難であった。

## < 研究成果報告内容 >

### 1. 研究開始当初の背景

腎移植は末期腎不全患者の唯一の根治療法であるが、移植腎廃絶の主要な原因である慢性抗体関連型拒絶反応は未だ解決されておらず、さらなる移植腎予後改善のため、治療法を模索する必要がある。慢性抗体関連型拒絶反応のメカニズムは、ドナー抗原に対する T 細胞の活性化、続いて生じる B 細胞による抗ドナー抗体産生による移植片への攻撃である。

制御性 T 細胞は、炎症環境下で、末梢血中、リンパ節あるいは臓器内で増加し、過剰な免疫応答を制御する。制御性 T 細胞の免疫制御機構の主体は、制

御性 T 細胞表面に存在する補助分子が T 細胞の活性化を制御すること、濾胞性ヘルパー T 細胞を抑え込んで B 細胞による抗体産生を阻害することである (Immunity 2014;41:1013-25)。これら 2 つの機序は、腎移植後の抗体関連型拒絶反応のメカニズムに一致し、この病態に対する治療ターゲットであることを示唆している。さらには、制御性 T 細胞の維持および増生には、IL-2 が重要であるが、自身のこれまでの研究において、移植後に使用される維持免疫抑制剤のうち、IL-2 を抑制するカルシニューリン阻害では、mTOR 阻害剤に比べて制御性 T 細胞の増生が減少することを示してきた (Transplant Int 2019;32(4):443-453)。さらに、制御性 T 細胞が組織へと誘導される際、CXCR3、CCR4、CCR6 など種々のケモカインレセプターが関与すること (Cell Reports 2017;20:757-770) ことが報告されている。しかし、実際の抗体関連型拒絶反応における制御性 T 細胞の役割、誘導機序については十分に解明されておらず、制御性 T 細胞が拒絶反応の抑制に寄与し、誘導に関わる因子が同定できれば、その基礎的知見をもとに、新たな「内在的な」治療法・予防法への応用も期待できると考えられた。

## 2. 研究の目的

腎移植後の抗体関連型拒絶反応の際に誘導される制御性 T 細胞の経時的変化、誘導に関与する因子について、すでに確立されたラット腎移植抗体関連型拒絶反応モデルを用いて検証することを、本研究の第一の目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) ラット腎移植抗体関連型拒絶反応モデルおよび検体採取

抗体関連型拒絶反応をより確実に惹起するため、事前に Brown Norway ラット (BN) の皮膚片を Lewis ラット (LEW) へ移植した感作モデルを用いた。その後、非感作状態でのラット腎移植モデルでの検証も行った。同モデルでは腎移植 7 日後に血清と尿を採取し、移植腎の摘出を行った。

### (2) 移植腎組織内の各種浸潤細胞の評価

摘出した移植腎のパラフィン切片/凍結切片を用いて、PAS 染色、免疫染色を行った。続いて制御性 T 細胞および各種免疫細胞のケモカインレセプター (CXCR3 など) に関する評価を免疫染色やフローサイトメトリーで予定した。

#### 4. 研究成果

皮膚感作モデルの腎移植では拒絶反応が非常に強く惹起され、観察期間の 7 日間の生存が困難な個体も存在した。そのため、検証は非感作モデルで行った。腎移植 7 日後に摘出した移植腎検体の組織学的評価においては、光学顕微鏡 (PAS 染色) での傍尿細管毛細血管や糸球体への炎症細胞 (好中球等) の侵入、免疫染色での同部位への補体 (C4d) 沈着が確認され、抗体関連型拒絶反応の病理組織学的所見に矛盾しなかった。続く制御性 T 細胞および各種免疫細胞のケモカインレセプターの評価は各種事情により遂行困難となり、十分な結果が得られなかった。

#### 5. 主な発表論文等

学会報告：なし

論文：なし

図書：なし

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------