

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25860370

研究課題名(和文) 移植拒絶反応を抗原特異的に制御する機構の解明

研究課題名(英文) The examination of mechanism of specific rejection

研究代表者

井上 善博 (Inoue, Yoshihiro)

大阪医科大学・医学部・助教

研究者番号：90646762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：移植片拒絶の強さ(rejection rate)が、主要組織適合性抗原(MHC)クラスI分子の発現量(gene expression rate)には相関せず、異なるMHCクラスI抗原の数(transgene number)に依存することを明らかにされた。しかし、トランスジェニックマウスの皮膚をC57BL/6マウスに移植し、移植片上のH-2Dd、H-2Kd分子を非自己と認識する受容体(MMR-1, MMR-2)に対するモノクローナル抗体(R15, R12)を用いて移植拒絶反応を抗原特異的に制御することを試みたが効果はやや不良であった。

研究成果の概要(英文)：Dd and Kd genes are equivalent as allogeneic MHC class I genes and that C57BL/6 (DbKb) mice reject Dd-, Kd-, or DdKd-transgened skin or tumor cells in a transgene numberdependent, gene expression rate-independent manner. Using our new MHC class I transgenic strains of mice, we could not define whether allografts are controlled by alloreactive cytotoxic macrophages via MMR1 and MMR2 receptors or by R15 and R12.

研究分野：移植免疫

キーワード：移植免疫 主要組織適合性抗原

## 1. 研究開始当初の背景

機能不全に陥った細胞、組織、臓器を持つ患者への究極の医療の一つに移植がある。しかし、移植部に浸潤するレシピエントの免疫担当細胞が、**移植片の主要組織適合性抗原 (MHC : ヒトでは HLA、マウスでは H-2 と呼称) を非自己 (同種異型) と識別し、移植片を拒絶する。**MHC にはクラス I とクラス II が知られ、前者は有核細胞が、後者は抗原提示細胞が発現しており、移植拒絶反応とは、移植片上のクラス I 分子を、レシピエントの免疫担当細胞が非自己と認識し移植片を傷害することである。ヒト HLA では、A、B、C の 3 領域、それぞれ約 30 種類、60 種類および 10 種類からなり、マウスでは D および K 領域のそれぞれに 10 数種類が知られている。マウスでは、H-2 分子が突然変異を起こしたマウスの皮膚を野生型(D<sup>b</sup>K<sup>b</sup>)マウスに移植すると、全例、12~14 日で急性拒絶されることが報告されている。しかし、MHC の遺伝子多型や複雑性のために移植拒絶反応のメカニズム (MHC の拒絶反応への貢献度およびリガンドと受容体の相互作用の様式など) には不明な点が多い。

これまで、**研究協力者 (大阪医科大学、研究機構、吉田龍太郎) らは、移植部に浸潤する Allograft- induced Macrophage (AIM) と命名されたマクロファージ系細胞 (D<sup>b</sup>K<sup>b</sup>) が、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) に先行して移植片に浸潤し、移植片 (D<sup>d</sup>K<sup>d</sup>) 上の H-2D<sup>d</sup> と H-2K<sup>d</sup> 分子を Macrophage MHC receptor 1 (MMR1) と MMR2 と命名された受容体によって、それぞれ非自己と識別し拒絶することを見いだした** (Microbiol Immunol. 41:149,1996; Microbiol Immunol. 50:105, 2006; Gene 384:1, 2006)。そして、申請者は以前に行った吉田らとの共同研究により、H-2D<sup>d</sup>、H-2K<sup>d</sup> や H-2D<sup>d</sup>K<sup>d</sup> 分子を発現するトランスジェ

ニックマウスや transfectants を樹立した。それらを野生型マウスに移植し、**移植片拒絶の強さ (rejection rate) が、主要組織適合性抗原 (MHC) クラス I 分子の発現量 (gene expression rate) には相関せず、異なる MHC クラス I 抗原の数 (transgene number) に依存**することを明らかにした (Microbiol Immunol. 55:446, 2011)。さらに、Mouse AIM (Allograft induced Macrophage) 上に発現する **MMR1 (Macrophage MHC receptor1) の Human homologue は HLA-B44、MMR2 は HLA-B62 をリガンドとすることが見いだされた** (Gene 501:127, 2012; Gene 454:31, 2010)。

今後の展望としては、これまでの研究成果をベースとして、移植免疫において業績をあげている研究協力者 (吉田) と消化器癌における臨床および研究を行っている申請者との共同研究により、**H-2D<sup>d</sup> や H-2K<sup>d</sup> 分子を認識する受容体である MMR1 や MMR2 をノックアウトした C57BL/6 マウスを作製し、MMR1 や MMR2 が H-2D<sup>d</sup> や H-2K<sup>d</sup> 分子の識別および拒絶反応に必須であることを明らかにする。また MMR1 や MMR2 に対する抗体 (R15, R12 モノクローナル抗体) による拒絶反応の抗原特異的制御および臨床において使用可能である新しい免疫抑制剤の開発**を目標に研究を行っていく予定である。本研究により、現行の免疫抑制剤による T 細胞機能の非特異的抑制ではなく、拒絶反応の重要な役割を担う MHC 分子とその受容体との結合だけを特異的に抑制する免疫抑制剤の開発が可能である。将来的には、移植間における個々の HLA の相違を考慮した、副作用の少ない**テーラーメイド移植医療の道が開ける可能性がある。**

## 2. 研究の目的

移植片上の MHC クラス I 分子とその移植片を認識する受容体との結合を、受容体 KO や抗体等により特異的に阻害し、拒絶反応を制御する。

### 3 . 研究の方法

トランスジェニックマウスの皮膚を C57BL/6 マウスに移植し、移植片上の H-2D<sup>d</sup>, H-2K<sup>d</sup> 分子を非自己と認識する受容体(MMR-1, MMR-2)に対するモノクローナル抗体 ( R15, R12 ) を用いて移植拒絶反応を抗原特異的に制御する。

### 4 . 研究成果

移植片拒絶の強さ(rejection rate)が、主要組織適合性抗原(MHC)クラス I 分子の発現量(gene expression rate)には相関せず、異なる MHC クラス I 抗原の数(transgene number)に依存することを明らかにされた。しかし、トランスジェニックマウスの皮膚を C57BL/6 マウスに移植し、移植片上の H-2D<sup>d</sup>, H-2K<sup>d</sup> 分子を非自己と認識する受容体(MMR-1, MMR-2)に対するモノクローナル抗体 ( R15, R12 ) を用いて移植拒絶反応を抗原特異的に制御することを試みたが効果はやや不良であった。

### 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 9 件)

1. **Inoue Y**, Suzuki Y, Ota M, Fujii K, Kawaguchi N, Hirokawa F, Hayashi M, Uchiyama K. Short and long-term results of laparoscopic parenchyma-sparing hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a comparative study using propensity score matching analyses.

*American Surgeon*. 2017 (in press). 査読有

2. **Inoue Y**, Imai Y, Osumi W, Shimizu T, Asakuma M, Hirokawa F, Hayashi M, Uchiyama K. What is the optimal timing for liver surgery of resectable synchronous liver metastases from colorectal cancer? *American Surgeon*. 2017 Jan 1; 83(1):45-53. 査読有
3. **Inoue Y**, Imai Y, Kawaguchi N, Hirokawa F, Hayashi M, Uchiyama K. Management of abdominal drainage after hepatic resection. *Dig Surg* 2017 Feb 10. doi: 10.1159/000455238. (Epub ahead of print) 査読有
4. **Inoue Y**, Imai Y, Fujii K, Hirokawa F, Hayashi M, Uchiyama K. The utility of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic diagnosis in the detection of intraoperative bile leakage. *American J Surg*. 2016 Oct 8. pii: S0002-9610(16)30650-X. doi: 10.1016/j.amjsurg.2016.09.039. (Epub ahead of print). 査読有
5. Yamamoto K, Ishii M, **Inoue Y**, Hirokawa F, MacArthur BD, Nakamura A, Haeno H, Uchiyama K. Prediction of postoperative liver regeneration from clinical information using a data-led mathematical model. *Sci Rep*. 2016 Oct 3;6:34214. 査読有
6. **井上善博**, 内山和久. 5-アミノレブリン酸の科学と医学応用 肝がんの診断と術中胆汁漏検索法. 東京科学同人. 2015 45: 84-88. 査読無
7. **Inoue Y**, Tanaka R, Komeda K, Hirokawa F, Hayashi M, Uchiyama K. Fluorescence detection of malignant liver tumors using

5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic diagnosis: principles, technique, and clinical experience. 査読有 *World J Surg.* 38(7):1786-94, 2014.

8. **井上善博**, 内山和久. 3Dシミュレーション・ナビゲーションによるグリソン先行処理肝切除の実際. *胆と膵.* 34(1):35-41, 2013 秋季増刊. 査読無

9. **Inoue Y**, Hayashi M, Tanaka R, Komeda K, Hirokawa F, Uchiyama K. Short-term results of laparoscopic versus open liver resection for liver metastasis from colorectal cancer: a comparative study. *Am Surg.* 79(5):495-501, 2013. 査読有

〔学会発表〕(計 0件)

〔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:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

井上 善博 ( Inoue Yoshihiro )

大坂医科大学・医学部・助教

研究者番号: 90646762

(2)研究分担者

( )

研究者番号:

(3)連携研究者

( )

研究者番号:

(4)研究協力者

内山 和久 ( Uchiyama Kazuhisa )

研究者番号: 80232867

吉田 龍太郎 ( Yoshida Ryotaro )