

氏名	もろ ほし けい 諸 星 計
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第554号
学位授与年月日	平成18年 3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Th1型ヘルパーT細胞発現ケモカインレセプター CCR5・CXCR3欠損マウスにおけるアロ角膜移植片拒絶 反応の解析
学位論文審査委員	(主査) 井上幸次 (副査) 山元修 佐藤健三

学位論文の内容の要旨

角膜移植はあらゆる臓器移植の中で最も成績が良く、ステロイド薬や免疫抑制薬の使用により、今日ではその生着率は90%以上に達する。その生着率の良さは、角膜自体の血管・リンパ管を欠くという解剖学的特徴と、前房関連免疫偏位という免疫学的特権によると考えられているが、それでもなお一部の炎症性・癬痕性角結膜疾患や再移植の場合、その生着率は著しく低下してしまう。これまでの動物モデルを使用した種々の研究から、角膜移植後拒絶反応はTh1型ヘルパーT細胞(Th1)を主体とした遅延型過敏反応であるということが明らかになりつつある。そこで今回我々は、Th1に発現しているケモカインレセプターである、CCR5・CXCR3欠損マウスを用い、同種異系角膜移植片に対する拒絶反応の違いを検討したので報告する。

方法

ドナーには野生型BALB/cマウス、レシピエントには野生型C57BL/6(WT)、CCR5欠損マウス、CXCR3欠損マウス、CCR5/CXCR3両欠損マウス(DKO)を用いて移植片の生存曲線解析を行い、術後2週における眼局所でのケモカインとそのレセプターの発現をReal-Time PCRにて解析した。また、アロ抗原に対するT細胞の反応性を検討するため、レシピエント脾臓T細胞とドナー脾細胞を用いて混合リンパ球反応(MLR)を行った。さらに、眼内に浸潤し拒絶反応に関与する細胞集団を明らかにするために、細胞表面抗原の発現を、RNase Protection Assay(RPA)にて解析し、頸部リンパ節の細胞集団をフローサイトメトリー(FACS)にて解析した。

結果

角膜移植片の平均生着期間は、WTでは 15.4 ± 0.6 日であるのに対し、DKOで 23.8 ± 2.5 日と有意な延長を認めたが($p=0.028$)、各レセプター単独欠損では有意な生着率の上昇は認めなかった。

WTでは、interferon- γ -inducible protein of 10 kD (IP-10)、regulated on activation normal T cell expressed and secreted (RANTES)、monokine induced by Interferon- γ (MIG)などのケモカインの発現が増加し、DKOではそれらの発現減少が見られた。一方、CCR1やCCR7などのレセプターは、WTよりもDKOで発現増加が認められた。MLRでは、WTに比べDKO由来T細胞の増殖能減弱を認め ($p < 0.01$)、RPAでは、WTに比べDKOでのICAM-1、TCR δ 、CD4、F4/80の減少が確認された。さらにFACSでは、WTに比べDKOの頸部リンパ節におけるCD4陽性細胞の減少とMHC II陽性細胞の軽度増加が確認された。

考 察

角膜移植拒絶眼では、RANTES、macrophage inflammatory protein (MIP) $\cdot 1\alpha$ 、MIP- 1β 、MIP-2、IP-10が著明に誘導されることが報告されており、本研究でもWTでは同様の結果が認められ、特にIP-10、MIG、RANTESの著明な増加が確認された。中でもIP-10はナイーブマウスの約250倍もの増加が見られたのに対し、急性拒絶反応の減弱が見られたDKOとCXCR3KOではその約1/2以下にとどまり、拒絶反応との相関が示唆された。また、心移植モデルでは抗MIG抗体の投与により移植片生着期間が延長したとの報告があるが、角膜移植モデルにおいては未だMIGに関する報告はなく、拒絶反応抑制の新たなターゲットとなりうると考えられた。

ケモカインレセプターに関しては、WTにおいて著明なCCR5とCXCR3の発現増加が見られ、拒絶反応におけるTh1細胞の重要性が示唆された。一方DKO及び各レセプター単独欠損マウスでは、WT以上の発現増加が認められたものが多く、今回の発現パターンをケモカインとレセプターの重複性から解釈すると、レセプター単独の阻害のみでは、その欠損を補完するような反応が惹起されてしまい、その結果各レセプター欠損マウスでの拒絶反応抑制が不完全なものになったと考えられた。

また、RPAとMLRの結果より、DKOにおける拒絶反応抑制の機序は、CD4⁺Th1細胞とマクロファージなどの抗原提示細胞を中心とした、遅延型過敏反応減弱によるものであると示唆された。さらにFACSの結果より、DKOの拒絶反応抑制が完全でなかったことの原因として、抗原提示細胞活性化の増強と、CD4⁺制御性T細胞の抑制が考えられた。

結 論

CCR5/CXCR3両欠損マウスにおいて、角膜移植後急性拒絶反応の抑制を認め、その機序はCD4⁺細胞を主体とした遅延型過敏反応減弱によることを明らかにした。上記ケモカインレセプターやそのリガンドの阻害による新たな治療の可能性が示唆された。

審査結果の要旨

本研究は、マウス実験的角膜移植モデルを用いて、拒絶反応におけるケモカインの重要性を検討したものである。その結果、CCR5/CXCR3 両欠損マウスにおいて有意な拒絶反応抑制を認め、そのメカニズムは Th1 型ヘルパーT 細胞を主体とした遅延型過敏反応減弱によるものであることを明らかにした。本論文の内容は、角膜移植後拒絶反応に限らず、その他 Th1 型疾患における、上記ケモカインレセプターをターゲットとした新たな治療の可能性を示唆するものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認める。