

京都大学教育研究振興財団助成事業
成果報告書

平成29年8月25日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科・医学専攻 呼吸器外科

職名・学年 博士課程4年

氏名 田中里奈

助成の種類	平成28年度 ・ 在外研究長期助成		
研究課題名	肺移植における免疫寛容の制御機構の解明		
受入機関	Washington University in St.Louis, Department of Surgery		
渡航期間	平成28年8月1日 ～ 平成29年7月31日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()		
会計報告	交付を受けた助成金額	3,000,000円	
	使用した助成金額	3,000,000円	
	返納すべき助成金額	0円	
	助成金の使途内訳	渡航費	303,818円
		査証申請手数料	57,663円
滞在費充当		2,638,519円	
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 貴財団の在外研究長期助成は大学院在学中の留学でも応募可能な大変貴重なものでした。貴財団から御支援をいただき、生活のセットアップなど安心して行うことができました。ありがとうございました。今後も役職や立場によらず幅広く応募可能な助成を継続していただけるよう希望しております。		

肺移植は末期呼吸不全患者の唯一の救命手段だが、肺移植患者の予後は他臓器の移植患者と比べ明らかに不良である。その主な原因は、移植肺の拒絶による移植肺機能不全である。肺は常に気道を通じて外界と接している臓器であるため、肺に特異的なアロ抗原反応が誘導され、これが免疫寛容の破綻に大きく関与していると考えられている。この問題を解決するためには、肺移植に特異的な免疫寛容の誘導・維持とその破綻のメカニズムを明らかにすることが必要である。今回の留学先である Washington University in St. Louis の The thoracic immunobiology laboratory では、マウス肺移植モデルにおいて、共刺激シグナル阻害を用いて移植肺に免疫寛容を誘導する方法を確立し、免疫寛容の制御機構に関する研究をすすめている。

MHC の異なるマウス間で肺移植を行い、術当日に MR-1 (抗 CD40L 抗体)、術後 2 日目に CTLA-4-Ig を投与 (Double co-stimulatory blockade; DCB) すると、免疫寛容が誘導され、その後に免疫抑制剤の投与を行わなくても移植肺は換気・血流を保つことができる。DCB で免疫寛容を誘導した移植肺内には、Bronchus associated lymphoid tissue (BALT) と呼ばれるリンパ組織が新たに形成されており、制御性 T 細胞である CD4⁺Foxp3⁺T 細胞が多く存在していることが明らかとなった[1]。

Foxp3⁺細胞が肺移植において免疫寛容の誘導に重要な役割を果たしているかを検討するため、Foxp3 プロモーター領域の下流にジフテリアトキシン受容体 (DTR) を発現させ、ジフテリアトキシン (DT) 投与により選択的に Foxp3⁺細胞を欠失させることができる B6 Foxp3-DTR マウスを recipient に用いた。Balb/c マウス肺を donor 肺として B6 Foxp3-DTR マウスに移植し、術後に DT を投与した。PBS を投与したマウスでは移植肺の寛容が継続されるのに対し、DT を投与したマウスでは、術後 7 日目に拒絶反応が確認された。

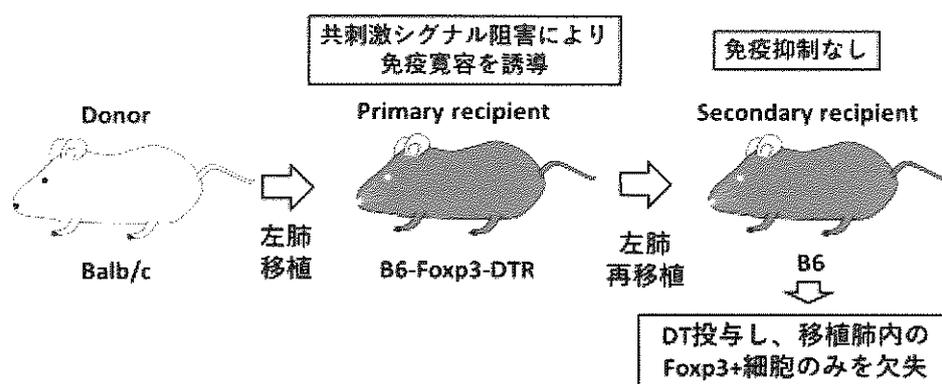
次に、「移植肺内に存在する Foxp3⁺細胞」が移植肺の免疫寛容の維持に果たす役割について、当 laboratory が確立したマウス再肺移植モデル[2]を用いて検討を行った。まず、Balb/c マウス肺を B6 マウス (primary recipient) に移植し DCB で免疫寛容を誘導する。術後 30 日目には移植肺に Foxp3⁺細胞を多く含む BALT が形成されている。この免疫寛容が得られた Balb/c マウスの移植肺を、別の B6 マウス (secondary recipient) に移植する。この場合、secondary recipient には免疫抑制を行わなくても移植肺の寛容は維持され、術後 30 日経過しても移植肺は換気血流を保つことができ、移植肺には Foxp3⁺細胞を多く含む BALT が引き続き観察される[1]。このモデルで、donor 肺に Balb/c マウスを、primary recipient に B6 Foxp3-DTR マウスを、secondary recipient に B6 マウスを用い、secondary recipient に DT を投与すると、「移植肺内に存在する Foxp3⁺細胞」のみを選択的に欠失させ、その後の免疫反応が観察可能となる[図]。PBS を投与した secondary recipient では移植肺の免疫寛容が継続されるのに対し、DT を投与した secondary recipient では術後 7 日目に拒絶反応が確認された。免疫寛容を誘導した移植肺内に存在する Foxp3⁺細胞は免疫寛容の維持に

重要な役割を果たしていると考えられた。

さらに、免疫寛容を誘導した移植肺内の Foxp3⁺細胞を欠失させた際に起こる拒絶反応に、どの細胞が関与するかを検討した。primary recipient に B6 Foxp3-DTR マウスを、secondary recipient として胸腺由来の T 細胞が欠失している B6 nude マウスを用いると、secondary recipient への DT 投与により移植肺内の Foxp3⁺細胞を欠失させても免疫寛容が継続された。primary recipient に B6 Foxp3-DTR マウスを、secondary recipient に B6 CD8 ノックアウトマウスを用いて secondary recipient に DT を投与すると、拒絶反応が観察された。

これらの結果から、移植肺の免疫寛容の維持に Foxp3⁺細胞は重要な役割を果たしていること、移植肺内の Foxp3⁺細胞を欠失させた際に発症する拒絶反応には T 細胞が必要であること、さらに、その引き金になるのは CD8⁺T 細胞ではなく CD4⁺T 細胞のみで十分であることが示唆された。

図



参考文献

1. Li W, Bribiesco AC, Nava RG, et al. Lung transplant acceptance is facilitated by early events in the graft and is associated with lymphoid neogenesis. *Mucosal Immunol* 2012;5(5):544-54.
2. Li W, Goldstein DR, Bribiesco AC, et al. Surgical technique for lung retransplantation in the mouse. *J Thorac Dis* 2013;5(3):321-325.