

審査の結果の要旨

氏名 小川陽子

本研究は心臓移植後の主要な問題である急性拒絶反応および慢性冠動脈病変に対して、合成レチノイド Am80 の効果およびその作用機序について検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. Am80 の急性拒絶反応に対する抑制効果

7-10 日で移植片拒絶が完成する MHC 非適合の組み合わせを用い、マウス異所性心臓移植モデルを作成して検討した。系統差による影響を抑えるために 2 種類の組み合わせを用いた (ドナー: C57BL/6 (H-2b) 又は C3H/He (H-2k)、レシピエント: BALB/c (H-2d))。Am80 はカルボキシメチルセルロース水溶液を担体として 1 日量 1mg/kg を経口投与し、6 日間の投薬後 1 日の休薬期間を置きこれを繰り返した。急性拒絶反応における移植片拒絶は日ごとの経皮的な拍動の確認の上で、開腹にて拍動の停止を確認した時点を移植片の廃絶 (拒絶) とした。

1-1. Am80 投与による急性拒絶反応に対する抑制効果について、Am80 投与群におけるグラフト生着率を Kaplan-Meier 生存曲線およびログランクテストにより評価した。コントロール (Am80 非投与) 群では心グラフトは  $8.3 \pm 0.3$  日 (ドナー: C57BL/6 マウス [n = 6]) および  $8.0 \pm 0.4$  日 (C3H/HeN マウス [n = 8]) で完全に拒絶された。Am80 投与群のグラフト生着期間は、C57BL/6 マウスは  $14.8 \pm 2.4$  日 (n = 6, P = 0.011 対同系統コントロール群)、C3H/HeN マウスは  $19.5 \pm 1.8$  days (n = 8, P = 0.000) と生着期間の延長が認められた。移植片拒絶の時点で病理学的に両群ともに国際心肺移植学会によるグレード 3B-4 の著明なリンパ球浸潤と心筋細胞傷害を認めた。

1-2. グラフト生着期間の延長の背景となる免疫学的機序を検討するため、RT-PCR によるグラフト中のサイトカイン発現の評価を行った。移植片拒絶時点における心グラフトに発現する IFN- $\gamma$  (Th1 サイトカイン) および IL-6 は mRNA レベルで共に Am80 群で有意に低下していた。また、Th2 サイトカインは有意差はないものの Am80 群で増加しており、in vivo においても Am80 が Th2 優位性を誘導することが示唆された。なお、CD40 や副刺激分子 B7-2 の発現は Am80 投与群にてやや増加していた。

1-3. グラフト生着期間の延長の背景となる免疫学的機序を検討するため、混合リンパ球反応を行った。混合リンパ球反応にて、Am80 添加によりアロ反応性リンパ球増殖は濃度依存的に抑制された。これらの結果により、Am80 は免疫学的機序を介してアロ反応性を低下させ、急性拒絶反応を抑制することが示唆された。

## 2. Am80 の慢性拒絶反応（移植心血管病変）に対する抑制効果

MHC マイナー抗原非適合によって、弱い同種免疫反応にて移植片拒絶に陥らず長期に移植片生着をし、約 1 ヶ月にて移植心血管病変を形成する組み合わせを用いて（ドナー：AKR (H-2k)、レシピエント C3H/He (H-2k)、マウス異所性心臓移植モデルを作成して検討した。Am80 はカルボキシメチルセルロース水溶液を担体として 1 日量 1mg/kg を経口投与し、6 日間の投薬後 1 日の休薬期間を置きこれを繰り返した。

2-1. 慢性モデルの移植心を組織学的に検討した結果、心筋内には著明な繊維化が認められ、免疫組織学的に新生内膜に CD4、CD8 陽性細胞をまばらに認めるものの、大多数の細胞はこれらに陰性であった。新生内膜には  $\alpha$ SMA 陽性細胞を多数認めた。以上より、このモデルが移植後冠動脈病変の研究に妥当であることが示された。

2-2. Am80 投与による慢性拒絶反応（移植心血管病変）に対する抑制効果について、移植後一ヶ月の時点でグラフトを摘出して移植心血管病変の形成を各群で計測し、血管径を一因子として統計処理を行った。心筋内冠動脈（コントロール群 101 動脈断面、Am80 投与群 91 動脈断面）を検討した結果、全血管径を含めた解析では Am80 投与群およびコントロール群の新生内膜増殖による血管狭窄率に有意差は認めなかったが、細動脈レベルの血管で Am80 投与群の狭窄率はコントロール群に比して有意に低下していた。

以上、本論文はマウス異所性心臓移植モデルにおいて、合成レンチノイド Am80 が急性拒絶反応および慢性冠動脈病変の形成を抑制すること、そして、その機序には免疫学的修飾が関与していることを示した。急性拒絶および慢性冠動脈病変の形成は臨床的に移植後の重要な課題であり、それらを改善する治療法が開発できる可能性を示した点で有意義な研究と考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。