

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 小川 真仁

本研究は心臓移植後の急性および慢性拒絶において新たな標的因子と考えられるPAI-1の役割を明らかにするため、急性拒絶および慢性拒絶が誘導されるマウス心臓移植モデルを用い、新規化合物である選択的PAI-1阻害剤の効果を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 急性拒絶に対するPAI-1阻害剤の効果を検討したところ、無治療群では移植心は7日目で停止するが、選択的PAI-1阻害剤を投与した結果、心臓の生着が3倍程度の延長を示す個体が認められた。急性拒絶反応を模倣するリンパ球混合試験の結果からPAI-1阻害剤によりリンパ球の増殖が抑制され、またその培養上清から炎症性サイトカインの発現を確認するためELISAを行った結果、PAI-1阻害剤によりIFN-gammaの発現が減少していることが分った。これにより急性拒絶モデルにおいてPAI-1阻害剤はリンパ球の増殖および活性を抑制することにより、拒絶反応を抑制したことが示された。
2. 慢性拒絶に対する影響を確認するため、突然変異種であるC57Bl/6 H2-bm12マウスと野生型C57Bl/6 H2-bマウスを用いて心臓移植を行い、慢性拒絶を誘導した結果、移植後60日目の移植心では移植心の停止は見られなかったが、種々の炎症性細胞の浸潤が心筋内に浸潤していた。また移植心において広範囲に組織の線維化が見られた。PAI-1阻害剤を連日投与した結果、慢性拒絶による病理学的変化が抑制されることが示された。
3. 慢性拒絶によりおこる冠動脈傷害に対する影響を確認するために病理学的検討を行ったところ、無治療の群では30%程度の新生内膜形成による冠動脈狭窄が確認されたが、PAI-1阻害剤によって10%程度にまで減少することが示された。PCNA抗体を用い、新生内膜における細胞の細胞増殖の程度を確認した結果、冠動脈傷害において細胞増殖を起こしている細胞が多く見られるが、投与により細胞増殖を示す細胞は減少された。

4. 移植後60日目の移植心を用い、免疫染色にて炎症性細胞の同定を行ったところ、慢性拒絶に関わる炎症性細胞のCD4、CD8、CD11b陽性細胞の浸潤が確認され、炎症性因子であるICAM-1の発現が上昇していることが見られた。また慢性拒絶が引き起こされた移植心から抽出されたmRNAを用い、Real-time RT-PCRを行ったところ、IFN-gamma、TNF-alphaなどの炎症性サイトカインやMCP-1、IP-10などのケモカインの発現が上昇していたが、PAI-1阻害剤を投与することによりそれらの上昇は抑制させることが確認され、PAI-1阻害剤によって炎症が抑制されることが示された。
5. Fibrinogen 抗体を用いて、免疫染色を行った結果、PAI-1 阻害剤により血管内膜に発現する fibrinogen の抑制が見られ、PAI-1 阻害剤は細胞外基質を介した炎症に影響を及ぼすことが示唆された。

以上、本論文はマウス心臓移植モデルにおいて、選択的PAI-1阻害剤が急性および慢性拒絶の抑制効果を示すことが確認された。本研究はPAI-1阻害剤による免疫抑制機構に対する影響や、いままで有効な治療法がない慢性拒絶に対する治療薬としての可能性を示唆しており、学位の授与に値するものと考えられる。