



Title	Effects of Blocking the Chemokine Receptors, CCR5 and CXCR3, with TAK-779 in a Rat Small Intestinal Transplantation Model
Author(s)	徐, 恒杰
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49837">https://hdl.handle.net/11094/49837</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	徐 恒 杰
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学 位 記 番 号	第 2 2 7 1 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病態制御医学専攻
学 位 論 文 名	Effects of Blocking the Chemokine Receptors, CCR5 and CXCR3, with TAK-779 in a Rat Small Intestinal Transplantation Model (ラット小腸移植モデルにおけるケモカインレセプター CCR5 および CXCR3 阻害剤 TAK-779 の効果)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 福澤 正洋 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 竹田 潔

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

臨床における小腸移植は短腸症候群や機能性腸疾患に適応されているが、小腸移植は移植片に豊富なリンパ組織を有するため、ほかの臓器移植に比べ、拒絶反応が強く、移植片の生着率は低い。また、多量の免疫抑制剤を必要とするため、成績とともにその副作用も問題とされている。今回、我々は体内を循環するリンパ球のホーミングに着目し、新たな免疫抑制療法を行うことで、従来の免疫抑制法とあわせて、副作用が少なく効果的な治療法の開発を本実験の目的とした。

腸疾患におけるケモカインの重要性は古くから知られている。中でもCCR5とCXCR3は特に注目されており、臨床と動物実験のデータすでに心臓、腎臓、肝臓などの移植に伴って高く発現することが知られている。CCR5とCXCR3に対するケモカイン結合阻害剤TAK-779は、当初HIV(Human Immunodeficiency Virus)の治療に開発され、現在いろいろな疾患の治療で試みられている。本研究は、ラット小腸移植モデルを使って、TAK-779の拒絶反応の抑制効果を、移植片浸潤細胞、特にリンパ球サブセットを含めて、ケモカインレセプターの発現の面から検討した。

## 〔 方法ならびに成績 〕

体重 200-300g、生後 7-9 週の雄性 DA (RT-1<sup>a</sup>) 或いは LEW (RT-1<sup>I</sup>) ラッ

トをドナーとして、その小腸 (35cm) をレシピエント LEW (RT-1<sup>I</sup>) ラットに異所性に移植した。グラフト腸管の両端は Thiry-Vella loop 人口肛門とした。TAK-779は10mg/kg/dayをday0からday10まで皮下に投与した。生存率の検討ではA群(allo rejection) (n=6)、DA to LEW、TAK-779投与(-); T群(n=8)、DA to LEW、TAK-779投与(+) ; C群(control) (n=6)、LEW to LEW、の3群にわけて薬の効果を検討した。検討項目はグラフト生着期間、day6及びday9の免疫組織及び免疫反応(FACS解析)、末梢血、脾臓、グラフトとレシピエントのPeyer patches (PP)、mesenteric lymph node (MLN) でのCD4、CD8、CCR5、CXCR3発現細胞の変化、加えて Mixed Lymphocyte Reaction (MLR)、Interferon Gamma (IFN $\gamma$ ) の分泌、ドナー細胞に対する抗体価として以下の実験を行った。

(1) グラフトの生存率: STOMA (吻合部) の色と分泌物の変化、移植部の硬さ、便の性状、陰茎部を含む皮膚の変化、体重の変化、毛並み、生死などでグラフトの生存を判断した。A群は平均7.0±0.3日で、T群は平均9.8±0.5日で拒絶された。C群では拒絶は認めなかった。T群はA群と比べ有意なグラフト生存延長を認めた(P<0.05)。

(2) 組織学的検討: Day6のグラフトを摘出し、病理組織を Hematoxylin-Eosin 染色を用いて形態学的評価を行った。Day6の組織所見はT群はA群と比べて、絨毛の高さや粘膜の厚さなどの腸管組織構造がよく保たれていた。また、day6で摘出したグラフトを免疫染色を行って蛍光輝度ヒストグラム分析を行ったところ、グラフトに浸潤された CD4+T細胞、CD8+T細胞はいずれもT群はA群より低下していた。

(3) 浸潤リンパ細胞の検討: Day6及びday9のレシピエントの血液、脾臓、MLNとグラフトのPP、MLNのリンパ細胞をFACS解析で分析した。T群とA群でCD4+T細胞、CD8+T細胞の比率の有意差は認めなかったが、量的にはCD4+T細胞とCD8+T細胞の数はグラフト PPのみならず、レシピエントの末梢血、脾臓、MLNで有意に減少していた。また、二重染色ではCD4+、CD4-に関わりなく、T群ではA群に比べ、CCR5とCXCR3の発現が有意に抑えられていた。

(4) 免疫反応の検討: Day6及びday9のレシピエントの血液、脾臓、MLNを使って、ドナーの脾臓のリンパ球と混合培養し、反応(MLR)を検討した。また、その際の IFN $\gamma$  の分泌も調べた。MLRでの実験でT群はA群より day6 では細胞反応性を抑えられていた。IFN $\gamma$  の分泌も有意に減少していた。次に day6 及び day9 のレシピエントの血清から、ドナーの脾臓リンパ球に対する抗体価を測定した。T群は、day6 では A群 (day6) より有意に低値を示したが、day9 では A群 (day6) より高値を示した。

## 〔 総 括 〕

ラット異所性小腸移植の実験において TAK-779 (10mg/kg/day) の投与は、拒絶反応の抑制効果を示し、また生着を延長させた。グラフト腸管構造の保護、グラフト浸潤細胞として CD4+T細胞と CD8+T細胞の抑制効果が観察された。また、リンパ細胞の反応、IFN $\gamma$  の分泌、血清の抗体価の抑制が認められた。これらより、小腸に発現する CCR5、CXCR3 分子

は、拒絶の際リンパ球循環において重要な働きがあり、そのレセプターを抑制する事により選択的に小腸グラフトの拒絶を抑制しうる可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

【背景】リンパ球循環において、そのホーミングに関連する重要な分子がケモカインであり、その中にケモカインのレセプターCCR5とCXCR3はさらに注目されており、それらのアンタゴニストTAK-779によるグラフト保護、生存延長効果を検討した。

【方法】LEW to LEW(S群)、DA to LEW TAK-779無し(A群)、DA to LEW TAK-779投与(T群)の3群に分け35cmの小腸を異所性に移植した。

【結果】T群ではA群に比べ有意にグラフト生存延長を認めた。術後6日目のグラフトの病理組織ではA群に比べ良好に腸管組織構造が保たれていた。グラフト浸潤細胞としてCD4+T細胞とCD8+T細胞の抑制効果が観察された。また、二重染色ではCD4+、CD4-に関わりなく、T群ではA群に比べ、CCR5とCXCR3の発現が有意に抑えられていた。そして、リンパ細胞の反応、IFN $\gamma$ の分泌、血清の抗体価の抑制が認められた。

【結語】小腸移植でのCCR5とCXCR3のアンタゴニストTAK-779投与による移植片保護効果が示唆された。

以上学位の授与に値すると考えられる。