APP-115-PM エイコサペンタエン酸による組織適合抗原完全不一致マウス移植心の生着延長と免疫制御細胞誘導に関する検討

帝京大学医学部外科¹⁾, 北海道大学医学部腎泌尿器外科学²⁾, 日本大学医学部外科³⁾

岩見 大基¹²⁾, Zhang Qi¹⁾, 荒牧 修³⁾, 野々村 克也²⁾, 白杉 望¹⁾, 新見 正則¹⁾

【背景と目的】エイコサペンタエン酸 (EPA) は魚油に豊富な不飽和脂肪酸で、日本では動脈硬化症や高脂血症の治療に使用されているほかさまざまな免疫誘導作用も報告されている。今回、マウス心移植における EPA の効果を検討した。【方法と結果】組織適合抗原完全不一致マウス心移植 (C57BL/10 [B10] → CBA) を行い EPA を単回腹腔内投与し移植心生着期間を比較した。生着期間中央値 (MST) は無治療群 8 日に対し、EPA0.1g/kg 投与で 13 日に、EPA1.0g/kg 投与 (EPA1.0 群) で 100 日以上に延長した。組織学的には移植 7 日後の移植心への細胞浸潤の著明な減少が認められた。また、EPA 投与の効果として FACS で移植 7 日後の脾臓の樹状細胞の副刺激分子の発現低下を認め、アロリンパ球混合培養上清の ELISA で炎症性サイトカインである IL-2、IFN- γ 、IL-12 の産生低下および抑制性サイトカインである IL-10 の産生増加を認めた。免疫制御細胞の存在を確認するために心移植後 30 日経過した EPA1.0 群マウス (primary recipient) の脾細胞を採取し、全脾細胞 (5×10^7 個) もしくは磁気ビーズで分離した CD4⁺脾細胞 (2×10^7 個)、CD4⁺CD25⁺脾細胞 (2×10^6 個) をそれぞれ naive CBA マウス (secondary recipient) に養子移入して直後に B10 マウスより心移植を行った。対照群は naive CBA マウスより同様に分離した全脾細胞 (5×10^7 個) もしくは CD4⁺脾細胞 (2×10^7 個) もしくは CD4⁺CD25⁺脾細胞を secondary recipient に養子移入して心移植を行った。EPA1.0 群からの養子移入では全脾細胞 (MST100 日以上)、CD4⁺脾細胞 (同 100 日以上)、CD4⁺CD25⁺脾細胞 (同 100 日以上) と対照群 (それぞれ MST14.5 日、11.5 日、8 日) より移植心の生着を延長し、EPA による primary recipient 内の免疫制御細胞誘導が確認された。【結論】EPA は組織適合抗原完全不一致マウス移植心の生着を延長し、EPA 投与による樹状細胞の副刺激分子発現抑制、IL-10 産生の増加、免疫制御細胞誘導の関与が考えられた。すでに臨床応用されている薬剤であり、臨床臓器移植での積極的使用も検討してよいと考えられた。

APP-116-PM 新規 NF- κ B 阻害剤 DHMEQ (dehydroxymethylepoxyquinomicin) による制御性樹状細胞の作成

慶應義塾大学医学部泌尿器科学¹⁾, 慶應義塾大学理工学部²⁾

篠田 和伸¹⁾, 中川 健¹⁾, 前田 高宏¹⁾, 森田 伸也¹⁾, 香野 日高¹⁾, 菊地 栄次¹⁾, 宮嶋 哲¹⁾, 大家 基嗣¹⁾, 梅沢 一夫²⁾

【目的】成熟樹状細胞は抗原提示細胞の一つであり、その成熟抑制は、免疫抑制療法の一つとして重要である。樹状細胞成熟の過程で NF- κ B は重要な転写因子の一つである。今回、我々は新規 NF- κ B 阻害剤 dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) を未熟樹状細胞に前投与し、LPS 刺激下に成熟が抑制されるか検討し、更に allogeneic T cell との混合培養において T 細胞の分化抑制、制御性 T 細胞 (Treg) の誘導に対する影響を検討した。【方法】ヒト末梢血単球細胞より樹状細胞を作成した。DHMEQ を LPS (200ng/ml) 刺激 2 時間前に投与した群 (dl-DCs), LPS 刺激 24 時間群 (m-DCs), 未熟樹状細胞 (im-DCs) を作成した。これらを用い、細胞障害試験、核内活性化 NF- κ B assay (ELISA), フローサイトメトリーによる細胞表面抗原発現、細胞内 IFN- γ , Foxp3 発現の検討、サイトカイン産生能、real time PCR, 混合リンパ球試験を行った。【結果】DHMEQ は dl-DCs に対し、10 μ g/ml で細胞毒性が見られたため、dl-DCs は DHMEQ5 μ g/ml 投与で作成した。m-DCs は LPS 刺激後 24 時間持続して、核内への NF- κ B 移行が見られた。一方 dl-DCs においては LPS 刺激後 24 時間持続して核内への NF- κ B 移行が抑制された。次に dl-DCs は CD40, CD80, CD86, HLA-DR の発現が m-DCs に比べ有意に低かった。また、dl-DCs の IL-6, TNF- α , IL-12 p40 の平均産生量は、それぞれ 12682 pg/ml, 4967 pg/ml, 225 pg/ml で m-DCs の 30686 pg/ml, 9845 pg/ml, 7695 pg/ml に比べ有意に抑制された。IL-12 mRNA の real time PCR では dl-DCs における mRNA の発現は m-DCs の 0.1% にまで抑制されていた。また、dl-DCs, im-DCs, m-DCs の T 細胞増殖能は (DC:T cell 比 1:10) それぞれ、38.8%, 27%, 100% であった。また、im-DCs, m-DCs, dl-DCs の Th1 細胞 (IFN- γ 陽性細胞) 誘導率はそれぞれ 8.3%, 41.0%, 28.2% であり、Treg 細胞 (CD25, Foxp3 陽性細胞) 誘導率はそれぞれ 17.4%, 23.8%, 10.5% であった。Treg 誘導率はそれぞれの IL-10 産生量と相関があった。(180pg/ml, 485pg/ml, 202pg/ml)。【考察】DHMEQ 前投与によって樹状細胞の成熟化が抑制され、T 細胞活性化を抑制することが可能であった。In vitro における Treg の誘導に関しては、IL-10 と相関する傾向があり、今後は in vivo における反応が課題である。