

Noguchi H, Ueda M, Hayashi S, Kobayashi N, Nagata H, Iwanaga Y, Okitsu T, Matsumoto S.	Comparison of M-Kyoto solution and histidine-tryptophan-ketoglutarate solution with a trypsin inhibitor for pancreas preservation in islet transplantation.	Transplantation	84	655-658	2007
Kim JY, Kina T, Iwanaga Y, Noguchi H, Matsumura K, Hyon SH.	Tea polyphenol inhibits allostimulation in mixed lymphocyte culture.	Cell Transplant.	16	75-83	2007
Iwanaga Y, Sutherland D.E.R., Papas K. K. Harmon J.V.	Pancreas Preservation for Pancreas and Islet Transplantation	Current Opinion in Organ Transplantation	4	445-451	2008
岩永康裕, 上本伸二	糖尿病に対する外科的治療法－膵臓移植と膵島移植－	糖尿病の療養指導 第42集	152-156		2008
岩永康裕, 興津 輝, 米川幸秀, 川口義弥, 上本伸二	心停止ドナー膵島移植	Organ Biology	15	349-356	2008
Sato E, Yano I, Shimomura M, Masuda S, Katsura T, Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, Uemoto S, Inui K.	Larger dosage required for everolimus than sirolimus to maintain same blood concentration in two pancreatic islet transplant patients with tacrolimus.	<i>Drug Metab. Pharmacokinet.</i>	24	175-179	2009
Noguchi H, Ueda M, Hayashi S, Kobayashi N, Okitsu T, Iwanaga Y, Nagata H, Liu X, Kamiya H, Levy MF, Matsumoto S.	Comparison of trypsin inhibitors in preservation solution for islet isolation.	<i>Cell Transplant.</i>	18	541-547	2009
佐々真理子, 岩永康裕, 山田祐一郎	膵島移植と再生医療	日本内科学会雑誌	98	817-823	2009
Tanemura M, Kawamoto K, Ito T, et al.	In vitro and in vivo prevention of human CD8 ⁺ CTL-mediated xenocyto-toxicity by pig c-FLIP expression in porcine endothelial cells.	<i>Am J Transplant.</i>	8	288-297	2008
Kawamoto K, Tanemura M, Ito T, et al.	Adenoviral-mediated overexpression of either membrane-bound human FasL or human decoy Fas can prolong pig islet xenograft survival in rat transplant model.	Transplantation Proceedings.	40(2)	477-479	2008

Tanemura M, Kawamoto K, Ito T, et al.	Pig cellular FLICE-like inhibitory proteins (c-FLIP) overexpression in pig xenograft cells induces resistance to human CD8 ⁺ CTL-mediated xenocytotoxicity.	Transplantation Proceedings.	40(2)	559-563	2008
Kawamoto K, Tanemura M, Ito T, Doki Y, Mori M, Sawa Y, et al.	Prolonged survival of pig islets xenograft by adenovirus-mediated expression of either membrane-bound human FasL or human decoy Fas antigen gene.	Xenotransplantation	15(5)	333-343	2008
Tanemura M, Saga A, Kawamoto K, Machida T, Deguchi T, Nishida T, Sawa Y, Doki Y, Mori M, Ito T.	Adenovirus-mediated gene expression of human c-FLIPL protects pig islets against human CD8 ⁺ CTL-mediated cytotoxicity.	Transplantation Proceedings.	41(1)	319-322	2009
K. Kawamoto, M. Tanemura, Y. Sawa, Y. Doki, M. Mori, T. Ito, et al.	In Vivo Controlling of Cellular Response to Pig Islet Xenografts by Adenovirus-Mediated Expression of Either Membrane-Bound Human FasL or Human Decoy Fas.	Transplantation Proceedings.	41(1)	331-333	2009
Tanemura M, Saga A, Kawamoto K, Machida T, Deguchi T, Nishida T, Sawa Y, Doki Y, Mori M, Ito T.	Rapamycin induces autophagy in islets : Relevance for islets transplantation. Transplantation Proceedings.	Transplantation Proceedings.	41(1)	334-338	2009
Tanemura M, Saga A, Kawamoto K, Machida T, Deguchi T, Nishida T, Sawa Y, Doki Y, Mori M, Ito T.	Intra- and extracellular remodeling effectively prevent human CD8 ⁺ CTL-mediated xenocytotoxicity by coexpression of membrane-bound human FasL and pig c-FLIPL in pig endothelial cells.	Transplantation Proceedings.	41(1)	391-394	2009
膝・膝島移植研究会 膝臓移植班	本邦膝移植症例登録報告(2008)	移植	43(6)	477-481	2008
T Kajiwara, Y Tomita, S Okano, T Iwai, <u>Y Yasunami</u> , Y Yoshikai, K Nomoto, R Tominaga, H Yasui.	Effects of cyclosporin A on the activation of NKT cells induced by α -galactosylceramide.	Transplantation	83	184-192	2007
Masayuki Satoh, <u>Yohichi Yasunami</u> , Nobuhide Matsuoka, Masahiko Nakano, Takeshi Itoh, Tomoyuki Nitta, Keizo Anzai, Junko Ono, Masaru Taniguchi, Seiyo Ikeda.	Successful islet transplantation to two recipients from a single donor by targeting pro-inflammatory cytokines in mice.	Transplantation	83(8)	1085-1092	2007

Iwai T, Tomita Y, Kajiwara T, Onzuka T, Okano S, <u>Yasunami Y</u> , Yoshikai Y, Nomoto K, Tominaga R.	The immunoregulatory role of NKT cells in cyclophosphamide-induced tolerance.	Transplantation	84(12)	1686-1695	2007
T Nitta, T Itoh, N Matsuoka, T Mera, D Kojima, M Nakano, Y Yamashita, Y Yasunami.	Prevention of early loss of transplanted islets in the liver of mice by adenosine.	Transplantation	88(1)	49-56	2009
Nobuhide Matsuoka, Takeshi Itoh, Hiroshi Watarai, Etsuko Sekine-Kondo, Naoki Nagata, Kohji Okamoto, Toshiyuki Mera, Hiroshi Yamamoto, Shingo Yamada, Ikuro Maruyama, Masaru Taniguchi, and Yohichi Yasunami.	High-mobility group box 1 is involved in the initial events of early loss of transplanted islets.	JCI	120(3)	735-743	2010
安波洋一	NKT細胞の新展開; 膵島移植拒絶反応とNKT細胞。	医学のあゆみ	225(2)	151-155	2008
Matsumoto S, Noguchi H, <u>Hatanaka N</u> , et al.	Improvement of pancreatic islet cell isolation for transplantation.	Baylor University Medical Center Proceedings	20	357-362	2007
Matsumoto S, Noguchi H, <u>Hatanaka N</u> , et al.	Estimation of Donor Usability for Islet Transplantation in the United States with the Kyoto Islet Isolation Method.	Cell Transplantation	18	549-556	2009
Matsumoto S, Noguchi N, <u>Hatanaka N</u> , et al.	SUITO index for evaluation of efficacy of single donor islet transplantation.	Cell Transplantation	18	557-562	2009

IV. 研究成果の刊行物・別冊

腎移植の免疫反応

腎移植の歴史は拒絶反応の機序の解明と免疫抑制法の進化の歴史であったといっても過言ではないであろう。近年、拒絶反応の機序が分子レベルで解明され、免疫抑制法もその標的に対する選択性を高め、最近では分子標的治療薬も開発されつつある。今後は近未来的には特異的免疫抑制を展望しつつ、さらに選択性を高め、安全かつ有効な免疫抑制法の開発が課題となろう (minimal immunosuppression)。そのためには拒絶反応の臨床病理、分子的機序の理解が不可欠である。ここでは腎移植における同種移植抗原に対する免疫応答の分子機序について概説し、拒絶反応の臨床病理像について要約する。

● 移植腎に対する免疫応答

同種移植抗原の認識とT・B細胞の活性化

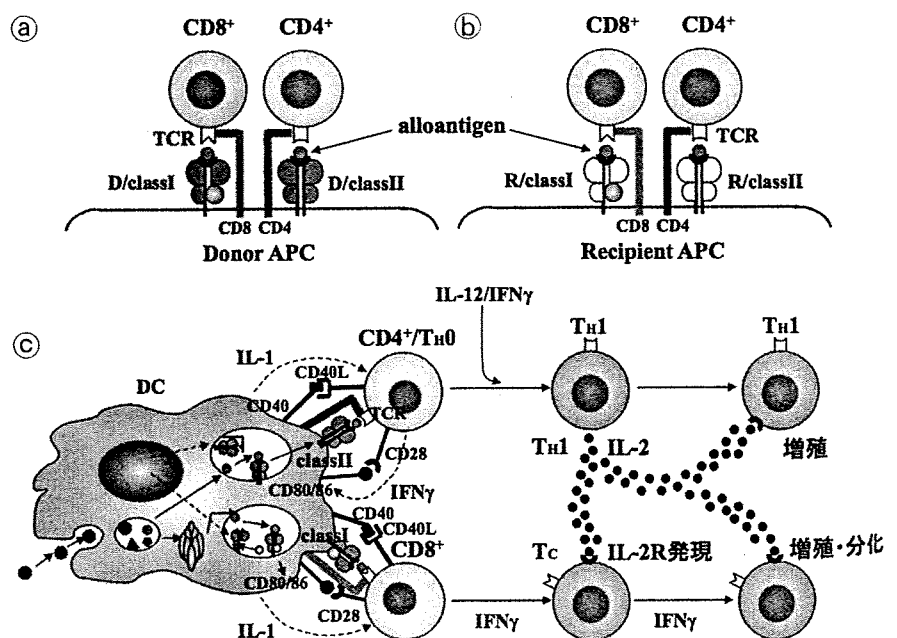
移植腎に対する免疫反応は、同種移植抗原の提示とその認識により開始される。移植腎内に存在するドナーの未熟抗原提示細胞 (APC) は、血流を介してレシピエントリンパ組織 (主として脾) に到達し、T

細胞領域 (脾では動脈周囲リンパ鞘 (PALS)、リンパ節では傍皮質領域) のT細胞と接触し、免疫シナプスを形成する。APCは炎症性サイトカインによって成熟し、ドナーclass IIおよびclass I抗原上に同種移植抗原ペプチドを提示する。CD4⁺ (Th0) はclass II抗原上に、CD8⁺ はclass I抗原上に提示された同種移植抗原ペプチドをそれぞれ認識し (direct recognition, 図1a), Th0はIL-12, IFN- γ 存在下でTh1に分化してIL-2を産生し、CD8⁺ は活性化cytotoxicity T細胞 (Tc) に分化する。産生されたIL-2はautocrine, paracrineにTh1およびTcをさらに増殖させる (clonal expansion) (図1c)。

T細胞活性化のもう1つの経路は、遊離した同種移植抗原がレシピエントの未熟APCに補足されてprocessingを受け、APCのclass IIおよびclass I抗原上に提示され、APCは血流を介してリンパ組織に移行し、CD4⁺ (Th0) およびCD8⁺ が、APCのclass IIおよびclass I抗原上にそれぞれ提示された同種移植抗原を認識して活性化、増殖、分化する経路である

図1 抗原認識とT細胞活性化

① : direct recognition, ② : indirect recognition, ③ : T細胞活性化
 DC : dendritic cell, Th0 : T helper 0 cell, Th1 : T helper 1 cell, Tc : cytotoxicity T cell, TCR : T cell receptor



(indirect recognition) (図1b)。

抗原認識を行ったTh0はIL-4, IL-10存在下ではTh2に分化する。T細胞は通常はCCR7を表出しているが、抗原と反応するとCCR7の表出を低下させ、CXCR5を発現してCXCL13などのケモカインに引き寄せられ、B細胞領域に移動する。他方、B細胞は通常はCXCR5を表出しているが、濾胞樹状細胞(FDC)により抗原刺激を受けるとCCR7を表出し、CCL21, CCL19などのケモカインを産生しているPALS領域に引き寄せられ、Th2と会合する。B細胞はBCR(B-cell receptor)を介して補足したペプチド抗原をclass II分子上に提示し、Th2はTCR(T-cell receptor)を介してこれを認識し、CD40Lを発現、B細胞上のCD40を介してB細胞の増殖・分化を誘導する。この過程で抗原に高親和性のB細胞は1次リンパ濾胞外で短寿命の抗体産生細胞に分化し、CXCR5, CCR7の表出が低下してリンパ節では髄質へ、脾ではbridging channel(白脾髄と赤脾髄の境界)へ移動する。

抗原に低親和性のB細胞は再び1次リンパ濾胞でFDCと接触し、抗原と反応して活性化しFDCが分泌するBAFFの作用を受けて増殖する(2次リンパ濾胞)。増殖するB細胞群の中心部(胚中心)のB細胞は核が大型で、表面免疫グロブリンの表出が低下しておりcentroblastとよばれる。増殖したB細胞の一部は再び表面免疫グロブリンを表出して増殖周辺部(帽状域)に移動し、centrocyteとよばれる。centrocyteは

FDCからの抗原を濾胞BヘルパーT細胞(T_{FH})に提示し、centrocyteとT_{FH}の相互作用により高親和性centrocyteの生存が維持され、免疫グロブリン遺伝子の体突然変異, receptor editing, クラススイッチ, 長寿命形質細胞への分化, メモリーB細胞への分化などが進行する(図2)。

免疫シナプスの形成

APCとTh0の接触はDC-SIGN(dendritic cell-specific, ICAM-3-grabbing nonintegrin)とT細胞上のICAM-3の結合によって開始される。引き続きICAM-1(CD54)とLFA-1(CD11a/18)の結合が起こり、APCとTh0が接着する。APC上のDC-SIGNはICAM-3に高親和性を示し、Th0上のICAM-3に結合してLFA-1を活性化させ、そのICAM-1への結合性を高めると推定されている。その後LFA-3(hCD58, mCD48)とCD2, CD80/86とCD28が結合し、引き続きMHC class II/抗原ペプチドとTCR/CD3/CD4の周辺にCD45, LFA-1などが集合し、ICAM-1/LFA-1の高親和性結合、さらに微小管, アクチンなど細胞骨格の再構成によって免疫シナプス<SMAC>が形成される^{1,2)}(図3)。この過程における膜蛋白の移動, 集積には細胞膜マイクロドメイン(リピッドラフト)が重要な役割を演じており、その細胞膜内側にはチロシンキナーゼ, アダプター蛋白が局在している。

リポ多糖, CpG DNA, dsRNAなどの細菌, ウイルス産物のToll-like receptorを介した刺激, TNF- α ,

図2 T細胞依存性B細胞活性化とプラズマ細胞への分化・抗体産生

DC : dendritic cell, FDC : follicular dendritic cell, T_{FH} : follicular B helper T cell
BCR : B cell receptor, TCR : T cell receptor

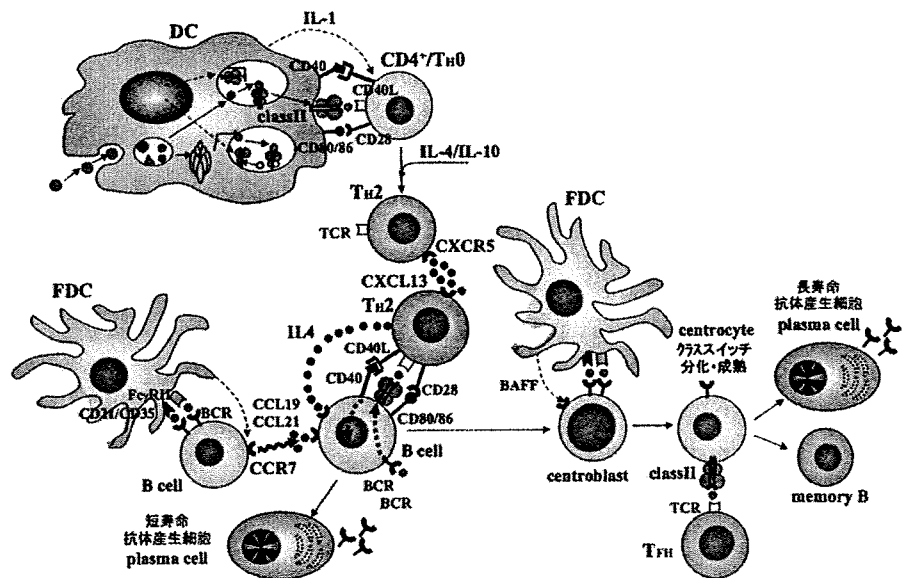


図3 免疫シナプスの形成と抗原認識

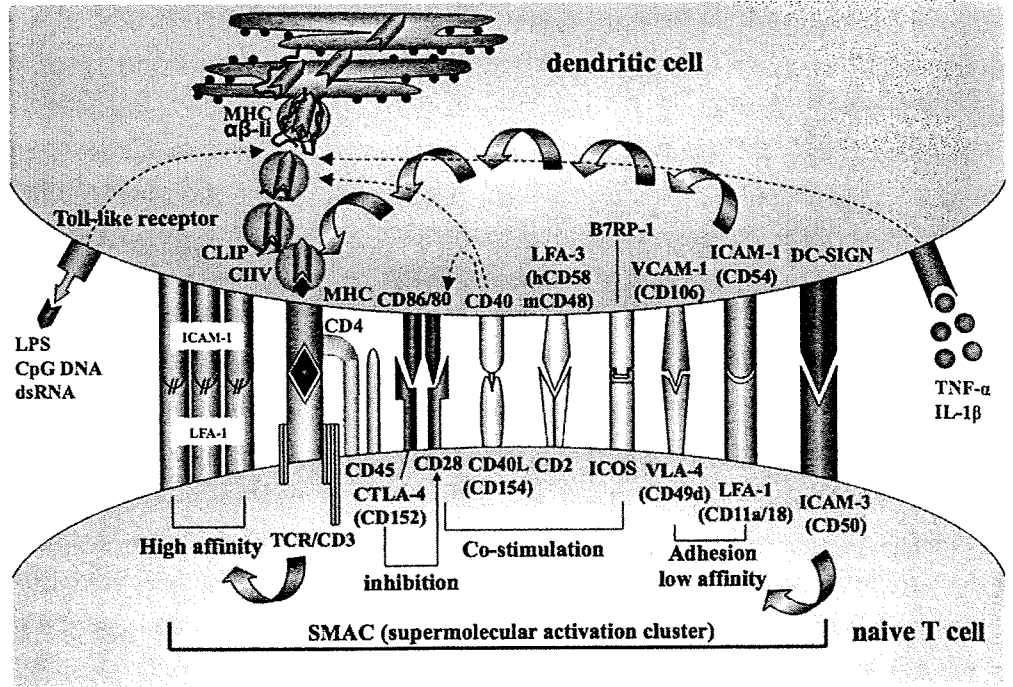
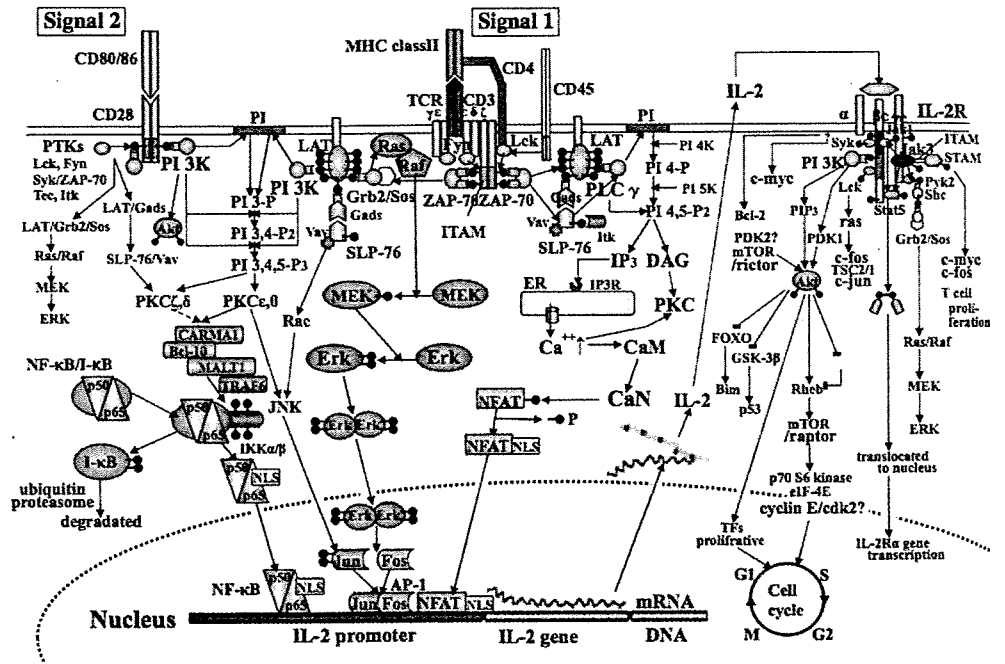


図4 T細胞活性化シグナルと細胞内シグナル伝達



IL-1 β などの炎症性サイトカイン、CD40/CD40L (CD154)結合などの刺激により、APC表面のMHC class II, CD86は著しく増加する。

活性化シグナルのT細胞内伝達 (図4)

T細胞レセプター($\alpha\beta$ 型および $\gamma\delta$ 型)はCD3と会合し抗原認識複体を形成している。 $\alpha\beta$ TCRは α 鎖と β 鎖がS-S結合により結合したヘテロ二量体

であり、 α 鎖と β 鎖はそれぞれ細胞外のVドメインとCドメイン、膜貫通セグメントと細胞内領域からなる。Vドメインは β 鎖ではVDJ遺伝子セグメントが、 α 鎖ではVJ遺伝子セグメントが再構成された遺伝子によってコードされ、あらゆる抗原に結合しうる多様性を獲得している。

CD3は抗原認識には関与しないが、抗原認識に引き続いて起こるシグナル伝達に不可欠である。CD3は γ ,

δ , ε , ζ 鎖の4種のポリペプチドから構成され、 ζ 鎖はそのスプライシング産物である η 鎖とS-S結合による二量体を形成している ($\zeta\zeta$, $\eta\eta$, $\zeta\eta$)。

TCR/CD3/CD4がAPC膜状のclass II/抗原ペプチドを認識すると、活性化シグナルが伝達され、T細胞の活性化が起こる。T細胞の活性化にはCD80/86-CD28, CD40-CD40L(CD154)などの共刺激シグナルが不可欠とされ、これらの共刺激シグナルが欠如するとT細胞は免疫学的無応答(anergy)に陥る。

● TCR/CD3シグナルの細胞内伝達(signal 1)

TCR/CD3/CD4/8を介したシグナル(signal 1)はprotein tyrosine kinases (PTKs)の活性化に始まり、 Ca^{2+} -calcineurin経路, Ras-Erk経路, プロテインキナーゼC(PKC)経路を介して伝達され、NFAT, AP-1(Jun/Fos), NF- κ Bなどの転写因子を活性化する。この結果IL-2などのサイトカインが産生・放出され、autocrine, paracrineにT細胞に作用して活性化する。

TCR/CD3複合体, CD4がAPC膜上のclass II/抗原ペプチドに結合すると、TCRと抗原ペプチドとの結合を強化するとともにCD4およびその細胞内ドメインに結合したp56^{lck}(Lck)がTCR/CD3複合体に引き寄せられ、Lckはその標的であるCD3の ζ 鎖のITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)に近接する²⁻⁴⁾。膜貫通蛋白でチロシンホスファターゼ活性を有するCD45によって、CD4のC末端側のホスホチロシン残基(Tyr505)が脱リン酸されると、コンフォメーションに変化をきたしてそのキナーゼ活性部位が露出する。これがCD4の触媒ドメインにあるTyr394を自己リン酸化してLckが活性化される⁵⁾。活性化Lckにより ζ 鎖のITAMがリン酸化される。CD3の ε 鎖に結合しているp59^{fyn}(Fyn)も同様に脱リン酸によって活性化され、CD3の γ , δ , ε 鎖上のITAMがリン酸化される。リン酸化されたITAMは細胞質チロシンキナーゼであるp70^{ZAP}(ZAP-70)のSH2(src homology 2)ドメインに結合し、ZAP-70をリン酸化し活性化させる。ZAP-70は膜貫通アダプター蛋白であるLAT(linker for activation of T-cells)のチロシン残基をリン酸化する²⁻⁴⁾。次にPLC γ , PI 3-キナーゼ(PI 3K)のサブユニットp85, アダプター分子Grb2/Sos複合体などがSH2ドメインを介してLATに結合する²⁻⁴⁾。

PLC γ はPI 4,5-P₂をinositol 1, 4, 5-P₃(IP₃)とdiacylglycerol(DAG)に分解し、IP₃は小胞体から Ca^{2+}

を遊離させ、 Ca^{2+} 濃度の上昇によりcalmodulin(CaM)が活性化される。活性化CaMは Ca^{2+} の存在下に非活性のcalcineurin(CaN)A/Bに結合しCaN A/Bを活性化する(Ca^{2+} -CaN経路)。活性化されたCaNによりNFATは脱リン酸されて核移行配列(NLS)が露出し、CaN/NFAT複合体は核内へ移行してIL-2遺伝子の結合ドメイン上でAP-1と結合する。

リン酸化したLATにはアダプター分子Grb2が会合し、Sos(RasのGDPをGTPに変換する)を介してp21^{ras}(Ras)を活性化する。活性化Rasはセリン/スレオニンキナーゼであるRaf-1と結合してMEK(MAP(mitogen activated protein)kinase-ERK(extracellular signal-regulated kinase)kinase)をリン酸化する。MEKはERKのチロシンおよびスレオニン残基をリン酸化し、リン酸化されたERKは2量体となって核内へ移行してc-Fosを誘導し、c-Junとを結合させてAP-1を形成する(Ras-Raf-MEK-ERK経路)^{2,6)}。

同時に Ca^{2+} 濃度の上昇により膜近傍にリクルートされたconventional PKC(cPKC)は、リン脂質(特にホスファチジルセリン)、膜に局在するDAG, Ca^{2+} により活性化される(PKC経路)⁷⁾。またPI 3,4-P₂およびPI 3,4,5-P₃を産生し、これらはホスファチジルセリンの存在下でnovel PKC(nPKC: δ , ε , θ)とatypical PKC(aPKC: ζ)を活性化する(PKC経路)⁸⁾。活性化PKC θ はグアニル酸キナーゼCARMA1にBcl-10を会合させ、この複合体にMALT1が会合し、さらにTRAF6が結合してIKK(I- κ Bキナーゼ)を活性化し、IKKはNF- κ B(p65: c-Rel, p50: NF- κ B1)に結合してその核内移行を阻害しているI- κ Bをリン酸化することによりNF- κ Bから遊離させ、その結果NF- κ Bは核内へ移行し、I- κ Bは分解される⁹⁾。

以上のPTKsの活性化に始まる以上のシグナル伝達経路の活性化を介して、NFAT, AP-1およびNF- κ Bの核内移行ないし形成とDNAへの結合によりIL-2を始めとしたサイトカインの転写が開始される。これらのTCR/CD3/CD4/8を介したT細胞活性化シグナルにはICAM-1-LFA-1, LFA-3-CD2が必要とされ、これらはsignal 1と総称されている。

● CD28シグナルの細胞内伝達(signal 2)

上記のTCR/CD3を介したT細胞活性化シグナルの伝達にはB80(B7-1)/86(B7-2)-CD28などの複数の接着分子の相互作用による共刺激シグナルが不可欠である(co-stimulatory pathway)。第2の共刺激シグ

ナル (signal 2) の存在によって初めてT細胞は完全に活性化され、初期応答遺伝子の転写が開始され、引き続きIL-2などのサイトカイン遺伝子の転写が開始される。第2の共刺激シグナルにはB80/86-CD28のほか、CD40-CD40L (CD154)、B7RP-ICOS、OX40L-OX40、CD153-CD30などがあげられるが、ナイーブT細胞に単独で細胞増殖を促進しうる共刺激はCD28のみである。これらの共刺激シグナルが存在しない場合は、T細胞は免疫学的無応答 (anergy) に陥るとされている。また上記の活性化共刺激シグナルとは別に、B80/86-CTLA-4 (CD152)、B7-H1 (PD-L1)-PD-1 (programmed death-1)、B7-DC (PD-L2)-PD-1など、さらにT細胞上のリガンドは同定されていないがB7-H3はT細胞を活性化し、B7-H4はT細胞活性化を抑制するとされている。

共刺激シグナルに関与する代表的な接着分子であるCD28の活性化シグナルの伝達経路およびTCR/CD3との相互作用については、その詳細は不明であるが2つの可能性が推定されている。CD28がAPC上のCD80/86分子に結合すると活性化されたPTKs (Lck, Fynなど) によりCD28の細胞内領域にあるチロシン残基がリン酸化され (pYMXM (Y: チロシン, M: メチオニン, X: 任意のアミノ酸)), このpYMXM配列を認識したPI 3Kの調節サブユニットであるp85内のSH2ドメインが結合してPI 3Kが活性化される⁹⁾。PI 3KはPKC (PKC θ) を活性化し、活性化されたPKCは前項で述べた経路によりI- κ Bをリン酸化してNF- κ Bから遊離させ、NF- κ Bは核内へ移行しI- κ Bは蛋白分解される。この過程はsirolimus (SRL) によって阻害されるため、mTOR (mammalian target of rapamycin) が関与していると推定されている⁹⁾。またPKCはJNK (Jun N-terminal kinase) の活性化を介してJunをリン酸化し、JunはFosと会合してAP-1を形成する。さらにPI 3KはAktを活性化し、mTORを介して増殖シグナルを伝達する。

CD28刺激により活性化されたPTKsは、PI 3K経路から独立したLAT/Gads, SLP-76/Vavを介する経路によりPKCを活性化する。また活性化PTKsはLAT/Grb2/Sosを介したRas-ERK経路の活性化によりFosを発現させ、FosはPKC-JNK経路の活性化により発現したJunと会合してAP-1を形成する。

CD28刺激によるシグナル伝達経路は、PI 3K経路とPTKs経路に大別され、機能的には、①NF- κ Bの

核内移行とDNAへの結合 (PKC-IKK経路)、②Junのリン酸化からAP-1の形成 (PKC-JNK経路)、③Fosの発現 (Ras-Erk経路)、④Aktのリン酸化と増殖シグナルの伝達 (Akt-mTOR経路) などに整理されよう。これらの経路の一部がTCRシグナルの伝達経路と共通であるのか否か、またTCRシグナルとの相互作用についての詳細は不明である。上記の作用を介して、TCR刺激への応答の増強と持続、IL-2転写の促進、SMAC (supermolecular activation cluster) の形成などに関与するとされている⁹⁾。

● IL-2Rシグナルの細胞内伝達

TCR/CD3および共刺激を介して伝達された活性化シグナルにより活性化されたT細胞はIL-2を産生・分泌するが、活性化T細胞は膜表面に高親和性IL-2受容体 (IL-2R) を発現し、IL-2と結合したIL-2Rを介したシグナル伝達系路が活性化され、T細胞のクローン性増殖が惹起される (signal 3)。機能的に高親和性IL-2Rは、IL-2R α 、IL-2R β c、IL-2R γ c鎖のヘテロ三量体である。IL-2R α の細胞内領域はシグナル伝達には関与せず、IL-2に対するIL-2Rの親和性を高める役割を担っている¹⁰⁾。IL-2R β c鎖および γ c鎖はI型サイトカイン受容体スーパーファミリーに属し、 β c鎖はIL-15Rと、 γ c鎖はIL-4R、IL-7R、IL-9R、IL-15R、IL-21Rと共有されている。

IL-2R β c鎖の細胞内領域は、セリン残基が多く存在するS領域、酸性アミノ酸を多く含むA領域、プロリン残基が多いH領域から構成され、IL-2による増殖シグナルの伝達に不可欠である¹⁰⁾。

S領域にはp72^{Syk} (Syk) が会合し、IL-2刺激によるSykの活性化によりc-mycの転写・誘導を経て細胞増殖が促進される¹¹⁾。同時にS領域を介する伝達経路として、bcl-2の転写誘導に関与する経路の存在が推定されている。

また、S領域にはJak (Janus kinase) 1も会合しており、Jak1はIL-2刺激によりリン酸化を受け活性化され、後述するJak3とともにSTAT5を活性化する¹⁰⁾。またShc/Grb2/Sosを介してRasを活性化し、RasはRafと結合してMEKをリン酸化し、引き続きERKがリン酸化を受けて活性化され核内へ移行する¹²⁾。おそらくJak1により活性化されたPI 3KはPIP2をリン酸化してPIP3を産生するが、PIP3はAktのリン酸化を介してmTORを活性化し、mTORのキナーゼ活性によりp70 S6キナーゼ、eIF-4Eを活性化してmRNA

の翻訳と蛋白合成を開始させる^{12,13}。さらにcyclin, CDKs(cyclin-dependent kinases)の発現により細胞周期をG1期からS期へと進行させる¹⁴。

A領域にはLckが会合し、IL-2刺激によるLckの活性化は、Rasの活性化を介してc-fosおよびc-junの転写を誘導する。しかしIL-2刺激による増殖にLckは必ずしも必須ではないとする指摘もある。

β c鎖のH領域にはJakの下流シグナル伝達物質であるSTAT (signal transducer and activator of transcription) 5が会合しており、JakキナーゼによるSTAT5の活性化はIL-2R α 鎖遺伝子の転写を誘導する¹⁰。

IL-2R γ c鎖はIL-2Rに結合したIL-2の細胞内への取り込みに必須であり、その細胞内領域はIL-2依存性細胞増殖に必須である^{15,16}。 γ c鎖のC末端の48アミノ酸からなる領域にJak3が会合し、その活性化はJak1, STAT5の活性化を誘導する¹⁵。STAT5はリン酸化された後に β c鎖H領域から解離し、ホモ二量体を形成して核内へと移行して転写活性を発揮する¹⁶。STAT転写因子群以外のJakの下流シグナル伝達物質として近年同定されたSTAM(signal transducing adaptor molecule)はITAM領域を介してJak3と会合するが、IL-2刺激依存性にJak3によってリン酸化されて活性化し、c-mycの転写誘導、IL-2依存性細胞増殖を促進する¹⁷。さらに非受容体型チロシンキナーゼとして最近同定されたPyk2はIL-2依存性にJak3によって活性化され、増殖シグナルを伝達する¹⁸。

IL-2Rは、細胞内領域にチロシンキナーゼドメインが存在しないため、活性化シグナルを伝達するに

は、キナーゼ活性をリクルートする必要がある⁵。IL-2との結合によりL-2R β cおよび γ c鎖のチロシン残基がリン酸化され、これに引き続きSyk, LckなどのSrcファミリーチロシンキナーゼ、Jak1, Jak3などのJakファミリーチロシンキナーゼ、FAK (focal adhesion kinase)ファミリーチロシンキナーゼであるPykなどが活性化され、増殖シグナルが伝達される。これらの種々のPTKsを起点とするシグナル伝達経路は、①PTKs(Syk, Lck) - 初期応答遺伝子(c-myc, c-fos, c-jun)発現に至る経路と、②Jakキナーゼを起点とするJak3 - STAT経路, Jak3 - STAM経路, Jak3 - Pyk2経路, ③PI 3K - Akt - mTOR経路などの経路に整理される。mTORの活性化に至る機序の詳細は不明であったが、近年PI 3K - Akt経路が関与していることが明らかにされた¹⁹。

●腎移植における拒絶反応

腎移植における拒絶反応は表1のように分類される。

超急性拒絶反応

移植前よりレシピエント血液中にドナー抗原に対する抗体(既存抗体, 前感作抗体)が存在すると、急激に拒絶反応が惹起され、通常は24時間以内に移植腎は拒絶される(超急性拒絶反応<HAR>)。HARは異種移植においてレシピエント血中に存在する自然抗体により、また同種移植においてもABO式血液型不適合移植においてドナーの血液型抗原に対する抗体価が高値である場合、さらに妊娠、頻回の輸血あ

表1 腎移植後の拒絶反応

	発症時期 (移植後)	機序	治療	予後
超急性拒絶反応	24~48時間 以内	既存抗体 (妊娠, 出血, 移植) 自然抗体 (異種移植, 血液型不適合)	抗体除去(血漿交換) 抗凝固療法 抗体産生抑制	不良
促進急性拒絶反応	1週間以内	前感作T, B細胞	ステロイドパルス 抗体除去(血漿交換) ATG/OKT3	比較的良好
急性拒絶反応	1週間~3カ月	T細胞(Th/Tc) 液性抗体(Th/B)	ステロイドパルス ATG/OKT3	良好
慢性拒絶反応	3カ月以降	液性抗体(Th/B)	免疫抑制薬増量 抗体除去(血漿交換) 抗体産生抑制	効果は あまりない

るいは過去の移植などにより移植前から抗ドナーHLA抗体が存在する場合に起こりうる。血液型不適合移植については今日では抗体除去などにより回避可能となったが、これについては別項に譲る。

移植腎の血管内皮上には恒常的にドナーclass I抗原が発現しており、これに反応する抗体はドナーclass I抗原に対するIgG抗体とされている。しかしサイトカイン刺激によりclass II抗原も発現するため、抗class II抗体の関与についてもその可能性は否定できない。

● 超急性拒絶反応の発生機序 (図5)

移植腎血管内皮上のドナーclass I抗原にレシピエント血清中の抗class I抗体が結合し、補体活性化が惹起される。補体活性化により内皮が傷害される(CDC: complement dependent cytotoxicity)と血球成分、血漿が血管外に漏出し、露出した基底膜コラーゲンとの接触により血液凝固因子、血小板が活性化され、血管内凝固が惹起される。同時に産生されるケモカインにより好中球が局所に遊走し、内皮への粘着が起こる。内皮傷害には補体によるCDCのほか、活性酸素種(ROS; reactive oxygen species)、サイトカイン、好中球エラスターゼ、血小板活性化因子(PAF)、ヒスタミン、thromboxane(TX)、leukotriene(LT)などの種々のメディエーター、さらにK細胞によるADCC(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)も関与する。移植腎血管内凝固が進行し、急速に移植腎の梗塞・壊死に至る^{20,21)}。

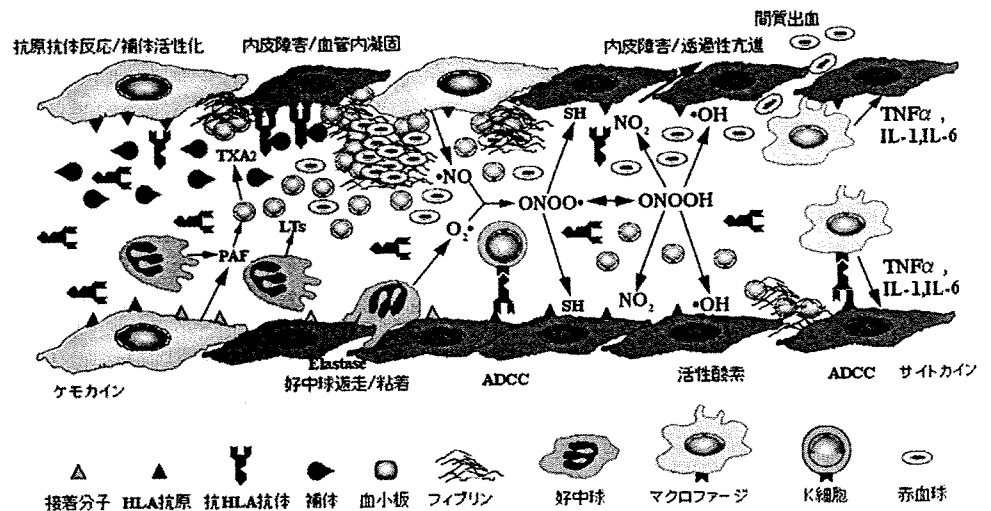
補体活性化については、抗原抗体反応によりそのCH2ドメインにC1qが結合し、C1r、C1sが連鎖的に

活性化され、C4はC4aとC4bに、C2はC2aとC2bに分解されて内皮細胞膜上でC4b2a(C3 convertase)が形成される。C4b2aはC3をC3aとC3bに分解し、C4b2a3b(C5 convertase)が形成され、C5をC5aとC5bに分解する。C5bはC6、C7、C8を連鎖的に結合し、管状立体構造を有するC9が結合してmembrane attack complex(MAC)の形成に至り、内皮膜表面にpore size 10nmの小孔が形成されて内皮細胞は傷害される^{22,23)}。異種移植におけるHARでは、補体第2経路も同時に活性化されるが、同種細胞膜上では第2経路は活性化されないとされ、同種移植における補体第2経路の関与については不明である。

この一連の過程で生じるC2bはキニン作用を有し、C3a、C5aは肥満細胞からヒスタミンを遊離させて血管透過性亢進、平滑筋収縮を惹起し、さらに多型核白血球(PMN)を局所に遊走させる。C3bは単球/マクロファージ(Mo/Mφ)、B cell、赤血球、血小板などの膜表面に存在するレセプターと結合してimmune adherence(IA)を起こし、Mo/Mφを活性化して貪食作用を促進する。

局所に遊走した好中球はL-selectinを発現し、血管内皮上に発現したP-selectin、E-selectinを介して内皮表面上でrolling現象を起こし、次いで好中球は膜表面にMac-1、LFA-1を発現し、内皮上に発現したICAM-1、ICAM-2、VCAM-1を介して内皮に接着、さらに血管外に遊走する(組織浸潤)。好中球により産生された好中球エラスターゼは直接内皮を傷害し、スーパーオキシド(O₂^{·-})は血管内皮で産生されたnitric oxide(NO)と反応して、peroxynitrite

図5 腎移植における超急性拒絶反応の機序



(ONOO \cdot), ヒドロキシラジカル(\cdot OH)を産生し、これらのROSは内皮傷害をさらに促進する。好中球はさらにPAF, LTsを産生し、前者は血小板、好中球を活性化して血管透過性、平滑筋収縮を亢進させ、後者のうちLTB $_4$ は好中球遊走、粘着、ROS産生を、LTC $_4$, D $_4$ は血管透過性、平滑筋収縮を亢進させる。さらに好中球により産生されるTNF, IL-1, IL-8, 活性化マクロファージから産生されるTNF α , IL-1は内皮傷害を促進し、同じく活性化血小板から遊離されるPAFも内皮傷害に関与する。活性化した血小板から遊離されるTXA $_2$ は血小板凝集をさらに促進し、血管攣縮を引き起こす。さらにADCCも直接あるいはサイトカインの産生を介して内皮傷害に関与すると推定されている。

内皮傷害によりトロンボモジュリン、プロテインC, PGL $_2$, eNOSによるNO産生は低下し、凝固系活性化、血管収縮、血小板活性化はさらに促進される。

上記のように循環血液中の抗HLA抗体と血管内皮上のHLA抗原との反応を起点として開始される内皮傷害の結果、血管透過性が亢進し、さらには赤血球が間質へ逸脱する(間質出血)。内皮傷害の結果露出した基底膜コラーゲンとの接触により血小板の粘着・凝集が開始され、同時に血液凝固因子が活性化されてフィブリン形成へと至る。このような過程を経て最終的には血管内凝固が完成し、移植腎は急速に壊死に陥り移植後24時間以内に拒絶される^{20,21)}。

● 超急性拒絶反応に関与する抗体

これらの抗体は頻回の輸血、妊娠、過去の移植によって産生される。ヒト赤血球はclass I, class II分子を発現していないが、輸血血液中に含まれる白血球、血小板に発現するclass I抗原によって感作される。胎児は父親由来のclass I, class II抗原も有しており、これらが母親にないHLAアロタイプである場合、抗HLA抗体を産生しうる。妊娠を繰り返すとこれらの抗体産生は増強するとされている。過去の移植によってその際のミスマッチ抗原に対する抗HLA抗体が産生される。

異種移植においてはヒト、旧世界サルはGal a 1-3Gal抗原に対する自然抗体を有しており、異種臓器血管内皮上のGal a 1-3Gal抗原に対してレシピエント血清中の抗Gal a 1-3Gal抗体が結合し、補体活性化が惹起される。異種移植では補体第2経路が活性化される。C4b, C3bと結合してその反応を阻害す

るDAF(decay-accelerating factor) 遺伝子を導入した動物からの移植では、HARは回避されうる。

● 既存抗体の検査法²²⁾

今日では移植前に抗HLA抗体を検査することにより、HARを回避することができる。

・リンパ球直接交差試験

ドナーT, B細胞とレシピエント血清をウサギ補体存在下で種々の温度条件下で反応させ、レシピエント血清中にドナーT, B細胞に対する抗体が存在するとCDCによりリンパ球が溶解される。エオジン染色により死細胞数をカウントすることで抗体量を半定量することができる(complement-dependent cytotoxicity assay; CDC法)。

最近ではflow cytometryを用いて高感度にドナーT, B細胞に対する抗体を検出することが可能となった。ドナーリンパ球とレシピエント血清をincubate、さらに洗浄後、ヤギ(あるいはヒツジ)血清でリンパ球のレセプターをマスキングし、FITC標識抗ヒトIgG(二次抗体)を加えた後に、PE標識CD19あるいはCD20、およびPE-Cy5標識CD3を添加してflow cytometryを行い、患者血清中の抗ドナーTおよびB細胞に対するIgGクラスの抗体をより高感度に検出する方法である(flow cytometry assay; FCA法)。

抗class I抗体はT, B細胞に反応性を示し、抗class II抗体はB細胞にのみ反応性を示すため、レシピエント血清中にドナーT細胞に対する抗体が存在する場合は超急性拒絶反応を起こす可能性があり移植は行わない。

・Panel-reactive Antibody (PRA)

パネルリンパ球に対する抗体が患者血清中にどの程度存在するかを検査する方法で、CDC法とFCA法がある。

CDC法では、種々のパネルリンパ球と患者血清を反応させ、補体を加え、一定時間後反応を止めてエオジン染色して、死細胞率をカウントする方法である。高度の前感作の判定は50~90%と施設により異なるが、85%以上とするのが一般的である。

FCA法(Flow PRA)では種々の組み合わせのHLA抗原を結合した合成ビーズ(Flow PRA Screening Kit)と患者血清を反応させ、FITC標識抗ヒトIgGを加えてflow cytometryを行う。class I抗原, class II抗原それぞれに対するIgG抗体の有無を高感度で検出する。最近では、固相化されたHLA抗原を結合させた合成

ビーズ (Flow PRA Specificity Kit) を用いて、存在する抗体の抗原特異性を検査することが可能である。

急性拒絶反応

移植後1週間以降に出現し急性の移植腎機能低下を呈する拒絶反応であり、形態学的には尿細管間質型 (tubulo-interstitial type) と血管型 (vascular type) に大別される。前者は間質浮腫、間質細胞浸潤、単核球の尿細管への浸潤を主体とし、早期に適切に診断され治療されれば、ほとんどの場合治療に良好に反応する。後者は間質尿細管病変に加えて血管内膜炎、高度となるとフィブリノイド変性、中膜平滑筋細胞壊死を伴う全層性血管炎、間質出血、糸球体炎などを示し、治療に抵抗性である。T細胞が主体を占めることが多いが、液性抗体が関与する場合もあり、特に高度の拒絶反応の場合に液性抗体の関与が多いとされている。

● 細胞性拒絶反応 (T cell-mediated rejection)

腎が移植されると虚血傷害などに由来する炎症によりサイトカインが産生され、移植腎中のドナー樹状細胞 (passenger leukocyte) が活性化される。樹状細胞は血流を介してレシピエントの二次リンパ組織のT細胞領域に移行し、ドナーMHC上の抗原ペプチドをレシピエントT細胞に提示する (direct recognition)²⁴⁾。レシピエントT細胞がこれを認識し (図1a)、抗原特異的なT細胞クローン増殖が誘導される (図1c)。同時に抗原特異的なB細胞クローンも拡大し、

形質細胞に分化して抗体を産生する (図2)。活性化したTH1/Tc細胞は血流を介して移植腎に到達し、Tc細胞は移植腎の細胞上に発現しているドナーMHC class I抗原を標的としてこれに接着し、傷害する²⁵⁾。Tc細胞による傷害の機序としてFas/FasL, perforin/granzyme, TRAIL/TRAIL-R1/-R2の3種の経路があげられる (図6)。

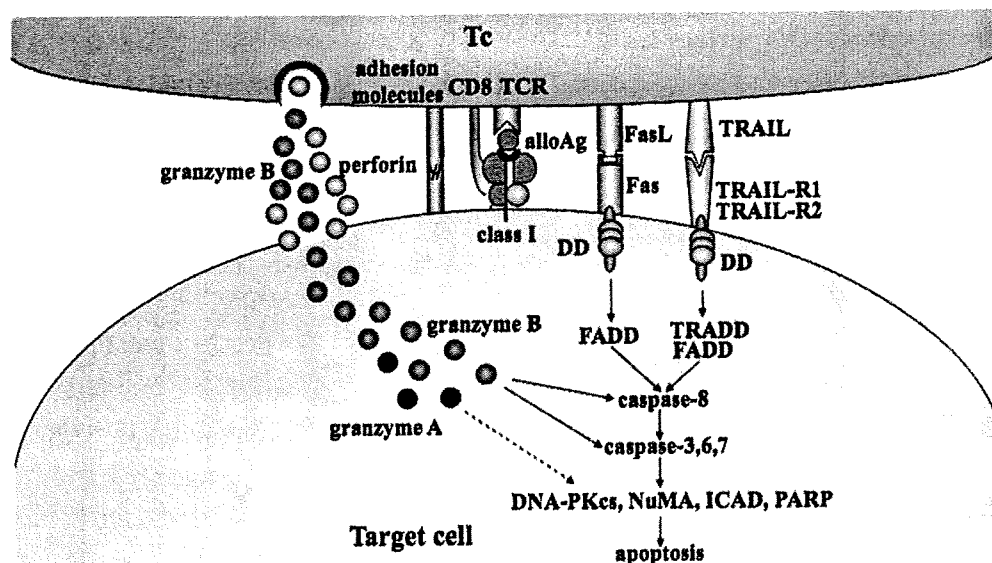
Tc細胞上のFasLが標的細胞上のFas分子と結合し、Fas分子の細胞内領域に存在するdeath domainを介してFADD (Fas-associated death domain protein) と結合し、さらにカスパーゼ-8と会合して活性化する。カスパーゼ-8はさらにカスパーゼ-3, -6, -7などを連鎖的に活性化し、ICAD (inhibitor of caspase-activated DNase), PARP (poly (ADP-ribose) polymerase), NuMA (nuclear mitotic apparatus protein), DNA-PKcs (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit) などの基質を分解してDNAを断片化し、標的細胞はアポトーシスに陥る。

TRAIL-R1/-R2もTRADD (TNF receptor-associated death domain protein), FADDと結合してカスパーゼカスケードを活性化するとされている。

またTc細胞はperforinを放出して標的細胞膜に小孔を開け、この小孔より取り込まれたgranzyme Bがカスパーゼ-3, -6, -7などのカスパーゼカスケードを活性化してDNA-PKcs, NuMAを切断してアポトーシスを誘導する。

すべての有核細胞にはclass I抗原が発現している

図6 Tc細胞の標的細胞障害機序



ためTc細胞の標的となりうるが、特に尿細管、血管内皮が傷害される。表2に急性拒絶反応のBanff分類を示す。

● 抗体関連型拒絶反応(antibody-mediated rejection)

腎移植後、Th0細胞の活性化、Th2の誘導、B細胞の活性化によりドナーclass I抗原に対する特異抗体が産生される(図2)。循環血液中の特異抗体が移植腎血管内皮上のclass I抗原に結合し、補体活性化が惹起され、血管内皮が傷害される。class I抗原以外にclass II抗原、あるいはMHC抗原以外の抗原に対する抗体の関与も推定されている²²⁾。多くの場合、細胞性拒絶反応が併存することが多いとされている。傍尿細管毛細血管(PTC)および糸球体毛細血管係蹄への好中球を主体とした細胞浸潤が特徴的であり、単核球浸潤、内皮細胞の腫張、間質浮腫、間質出血も認められる。高度の場合は糸球体毛細血管係蹄のフィブリン血栓、動脈壁のフィブリノイド壊死、尿細管壊死なども認められる。その21~29%において、循環血液中に抗class I抗体の存在が確認される²⁶⁾。

慢性拒絶反応

慢性拒絶反応は腎移植後、数カ月から年の単位で徐々に進行し、移植腎機能が進行性に低下して蛋白尿、高血圧、貧血などを呈し、最終的に移植腎機能の廃絶に至る。おそらく移植後に血管内皮上のclass I抗原に対する抗体が産生され、この抗体が慢性拒絶反応の発生機序に中心的な役割を演じていると考えられている。この抗体の産生には主としてindirect recognition(図1b)が関与していると考えられている。

● 慢性拒絶反応の病理所見

慢性拒絶反応における組織学的終末像は、移植腎動脈における内膜肥厚と内腔狭小化、尿細管の萎

縮・脱落、間質線維化と拡大、糸球体硬化で特徴づけられ、古典的には動脈病変の機序は、ドナー同種抗原に対する免疫学的な内皮傷害に引き続く、増殖性の修復機転による内膜肥厚と内腔狭小化と考えられている^{27,28)}。

動脈病変の特徴は、内膜の線維性肥厚、内弾性板の断裂、中膜平滑筋細胞の内膜への遊走と増殖、泡沫細胞などが認められ、ムコ多糖類、コラーゲン、フィブロネクチン、プロテオグリカンなどの細胞外基質が増加する。また内皮下に浸潤した平滑筋細胞は α -smooth muscle actin陽性で、その他にCD4⁺、CD8⁺、CD45RO⁺、単核球、さらにはマクロファージ、樹状細胞の浸潤が認められることもある。また内皮細胞上にはICAM-1、VCAM-1などの接着分子の発現が増加する。platelet-derived growth factor (PDGF)-B受容体、TGF- β 1、endothelin、fibroblast growth factor-1およびその受容体の発現も認められる^{29,30)}。

糸球体病変は、基底膜の二重化、メサングウム基質の増加が特徴的であり、糸球体の癒着と硬化、さらにメサングウム融解、webbing、glomerular tip lesionなどの所見が顕著となる²⁶⁾。これらの病変はsegmentalからglobalな変化まで、症例によって広範な分布を有する。免疫蛍光染色ではIgM、IgG、C3、フィブリンなどの毛細血管係蹄壁への沈着が認められる²⁶⁾。基底膜の二重化は電顕によっても認められ、内皮下の沈着物の有無、およびその性状により分類されている。

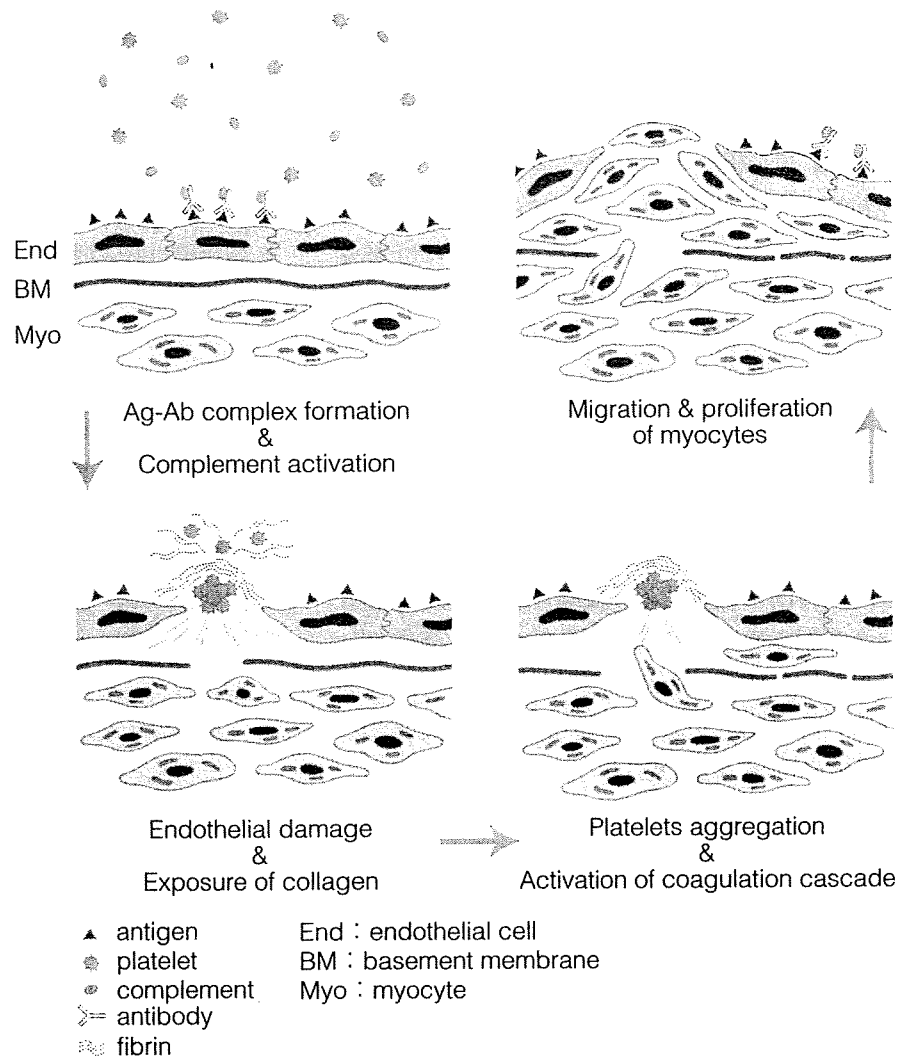
尿細管の萎縮と間質の線維化は特徴的な所見であり、萎縮尿細管の基底膜は肥厚して二重化所見を呈し、しばしばC3の沈着、まれにIgGの沈着が認められる。間質には小リンパ球、形質細胞および肥満細胞の浸潤が認められる。

傍尿細管毛細血管(PTC)は拡張し、肥厚した基底

表2 急性拒絶反応のBanff分類

vascular type	v3	III v3			severe
	v2	II b v2			moderate
tuburo-interstitial type	v1	II a i2~3/t2			
	v0	Borderline Change	I a i2~3/t2	I b i2~3/t3	mild
		t0	t1	t2	t3

図7 慢性拒絶反応の発生
機序



膜が認められるが、逆に基底膜がほぼ消失することもある。PTCの基底膜は、電顕で二重化ないし多層化所見を呈し、C4dの沈着が関連すると考えられている³¹⁾。C4dの沈着は抗ドナーclass IおよびII抗体の患者血中の存在と強く相関し、C4d沈着が認められない症例では血中抗ドナー抗体も認められないとする報告もある²⁶⁾。以上より、PTC基底膜の多層化はPTC内皮の免疫学的傷害によるものと推定されている。

● 慢性拒絶反応の発生機序

慢性拒絶反応の病理発生機序については、移植後、移植腎血管内皮上のHLA抗原に対する抗体が産生され、抗原抗体反応に引き続き補体古典経路が活性化される。その結果内皮が傷害され、露出した基底膜との接触により、血液凝固因子および血小板が活性化され、活性化血小板から放出されたPDGFは中膜平

滑筋細胞を内皮下に遊走させ、その増殖を促進する。この一連のサイクルが繰り返された結果、内膜肥厚と内腔狭小化に至るものと考えられる(図7)^{27,28)}。

近年、慢性拒絶反応のMHC同種抗原認識におけるindirect recognitionの重要性が指摘され、移植後一定期間免疫学的にはsilentであり、その後徐々に進行する慢性拒絶反応の臨床病理像については、MHCβ鎖の超可変域におけるepitope switching/spreadingという概念の導入により説明されている³²⁾。そのようなMHC同種抗原反応性CD4⁺細胞の活性化とサイトカインの産生(IL-1, 2, 4, 6, 13, IFN-γ), B細胞活性化と抗体産生, Mφ活性化と種々の増殖因子(PDGF, TGF-β, FGF, ICF-1, ET-1)およびサイトカイン(TNF-α, MCP-1, AIF-1, IL-10)の産生などが、慢性拒絶反応の発生機序に関与していると推定

されている。興味深いことに、Th2サイトカイン (IL-4, IL-10, TGF- β など) のknock-outでは血管病変は抑制できず、慢性拒絶反応においてTh1/Th2 shiftは関係していないと推定されている。

●おわりに

腎移植における拒絶反応の免疫学的機序および臨床病理像について概説した。 (寺岡 慧)

○文献

- 1) Dustin ML : Coordination of T cell activation and migration through formation of the immunological synapse. *Ann NY AcadSci*, 2003 ; 987 : 51-59.
- 2) Weiss A, Samelson LE : T-lymphocyte activation. *Fundamental Immunology*, Paul WE, ed, Lippincott, Philadelphia, 2003, pp321-363.
- 3) Cambell PM, Halloran P : T cell activation. *Transplantation Biology - Cellular and Molecular Aspects*, Tilney NL, Strom TB, Paul LC, ed, Lippincott, Philadelphia, 1996, pp411-434.
- 4) Gomperts BD, Klamer LJM, et al : 非受容体型チロシンキナーゼによるシグナル伝達経路. シグナル伝達 (Signal Transduction, by Gomperts BD, Klamer LJM, Tatham PER), 上代淑人監訳, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 2004, pp287-301.
- 5) Gomperts BD, Klamer LJM, Tatham PER : 蛋白質の脱リン酸化とリン酸化. シグナル伝達 (Signal Transduction, by Gomperts BD, Klamer LJM, Tatham PER), 上代淑人監訳, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 2004, pp375-39.
- 6) Gomperts BD, Klamer LJM, et al : 受容体型チロシンキナーゼによるシグナル伝達経路. シグナル伝達 (Signal Transduction, by Gomperts BD, Klamer LJM, Tatham PER), 上代淑人監訳, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 2004, pp259-285.
- 7) Lodish H, Berk A, et al : Cell-to-cell signaling : Hormones and receptors. *Molecular Cell Biology*, Lodish H, Berk A, et al, eds, Freeman, 2000, pp848-909.
- 8) Gomperts BD, Klamer LJM, et al : リン酸化と脱リン酸化 : プロテインキナーゼAとプロテインキナーゼC. シグナル伝達 (Signal Transduction, by Gomperts BD, Klamer LJM, Tatham PER), 上代淑人監訳, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 2004, pp191-226.
- 9) Sanchez-Lockhart M, Marin E, et al : Cutting edge : CD28-mediated transcriptional and posttranscriptional regulation of IL-2 expression are controlled through different signaling pathways. *J Immunol*, 2004 ; 173 : 7120-7124.
- 10) 辻野志穂, 谷口維紹 : IL-2シグナル伝達と非受容体型チロシンキナーゼ. 細胞のシグナリング. *Molecular Medicine*, 臨時増刊号, 1999 ; 36 : 386-393.
- 11) Minami Y, Nakagawa Y, et al : Protein tyrosine kinase Syk is associated with and activated by the IL-2 receptor : Possible link with the c-myc induction pathway. *Immunity*, 1995 ; 2 : 89-100.
- 12) Leonard WJ : Type 1 cytokines and interferons and their receptors. *Fundamental Immunology*, Paul WE, ed, Lippincott, Philadelphia, 2003, pp701-773.
- 13) Cooper GM, Hausman RE : Cell signaling. *The Cell - A Molecular approach*, Cooper GM, Hausman RE, eds, ASM Press, Washington, 2007, pp599-648.
- 14) Nourse J, Firpo E, et al : Interleukin-2-mediated elimination of the p27Kipl cyclin-dependent kinase inhibitor prevented by rapamycin. *Nature*, 1994 ; 372 : 570-573.
- 15) Takeshita T, Asano H, et al : Cloning of the γ chain of the human IL-2 receptor. *Science*, 1992 ; 257 : 379-382.
- 16) Miyazaki T, Kawahara A, et al : Functional activation of Jak1 and Jak3 by selective association with IL-2 receptor subunits. *Science*, 1994 ; 266 : 1045-1047.
- 17) Takeshita T, Arita T, et al : STAM, signal transducing adaptor molecule, is associated with Janus kinases and involved in signaling for cell growth and c-myc induction. *Immunity*, 1997 ; 6 : 449-457.
- 18) Miyazaki T, Takaoka A, et al : Pyk2 is a down-stream mediator of the IL-2-coupled Jak signaling pathway. *Genes Dev*, 1998 ; 12 : 770-775.
- 19) Cooper GM, Hausman RE : Cell death and cell renewal. *The Cell - A Molecular approach*, Cooper GM, Hausman RE, eds, ASM Press, Washington, 2007, pp689-718.
- 20) 寺岡 慧 : 腎移植における液性拒絶反応. 腎移植の進歩 - わが国の現状と今後の展望. 日本腎臓学会 海外・規格委員会/腎移植推進委員会編, 東京医学社, 東京, 2006, pp111-123.
- 21) Kupiec-Weglinski JW, et al : Hyperacute and accelerated allograft rejection. *Transplantation Biology. Cellular and Molecular Aspects*, Tilney NL, Strom TB, Paul LC, eds, Lippincott, Philadelphia, 1996, pp541-556.
- 22) Campbell PM, Halloran PF : Antibody-mediated rejection. *Solid Organ Transplant Rejection - Mechanisms, Pathology, and Diagnosis*, Solez K, Racusen LC, Billingham ME, eds, Dekker, New York, 1996, pp29-58.
- 23) Hruban RH, Baldwin WM, et al : Immunopathology of rejection. *Solid Organ Transplant Rejection - Mechanisms, Pathology, and Diagnosis*, Solez K, Racusen LC, Billingham ME, eds, Dekker, New York, 1996, pp59-75.
- 24) Dorling A, Lechler R : The passenger leukocyte, dendritic cell and antigen-presenting cell. *Transplantation Biology - Cellular and Molecular Aspects*, Tilney NL, Strom TB, Paul LC, eds, Lippincott, Philadelphia, 1996, pp355-379.
- 25) Berke G : Cytotoxic T cells and mechanisms of tissue injury. *Transplantation Biology - Cellular and Molecular Aspects*, Tilney NL, Strom TB, Paul LC, eds, Lippincott, Philadelphia, 1996, pp435-455.
- 26) Mauyiyedi S, Colvin RB : Pathology of kidney transplantation. *Kidney Transplantation*, Morris PJ, Principles and Practice, eds, Saunders, Philadelphia, 2001, pp343-376.
- 27) 寺岡 慧 : 腎移植における慢性拒絶反応とその治療に関する研究. *日腎会誌*, 1988 ; 30 : 1237-1251.
- 28) Teraoka S, Takahashi K, et al : New approach to management of chronic vascular rejection with prostacyclin analogue after kidney transplantation. *Transplant Proc*, 1987 ; 19 : 2115-2119.
- 29) Russel ME, Raisanen-Sokolowski A, et al : Immunobiology of chronic rejection : effector pathways that regulate vascular thickening. *Graft*, 1998 ; 1 (Suppl II) : 7-10.
- 30) Alpers CE, Davis CL, et al : Identification of platelet-derived growth factor A and B chains in human renal vascular rejection. *Am J Pathol*, 1996 ; 148 : 439-451.
- 31) Oikawa T, Morozumi K, et al : Electron microscopic peritubular capillary lesions : a new criterion for chronic rejection. *Clin Transplant*, 1999 ; 13 (Suppl 1) : 24-32.
- 32) Vella JP, Knoflach A, et al : T cell mediated immune responses in chronic allograft rejection : role of indirect allorecognition and costimulation. *Graft*, 1998 ; 1 (Suppl II) : 11-17.

II 合併症

iii 非免疫学的膵傷害

1 はじめに

膵臓移植後の膵傷害は、虚血再灌流傷害、膵血管内血栓症、移植膵膵炎（虚血性、逆流性、薬剤性、ウイルス性など）、薬剤性膵島機能障害などの非免疫学的傷害と、急性拒絶反応、慢性拒絶反応などの免疫学的傷害とに大別される。新しい免疫抑制剤の導入と免疫抑制法の進歩により移植膵の immunological loss（拒絶反応による機能廃絶）は1～2%とされており、膵臓移植後の成績に最も大きく影響する因子としては非免疫学的傷害、特に移植膵の血栓症と薬剤性膵島機能障害であろう。本項では膵臓移植後の非免疫学的傷害について概説する。

2 虚血再灌流傷害

2.1 膵臓の虚血傷害

a. 実験的阻血傷害

膵臓の *in situ* 阻血実験によれば、膵臓は1時間の血行遮断に耐え得ると報告されている。1時間の阻血後でも外分泌腺の形態および機能は維持され、さらに内分泌機能も保持されるとされている^[1,2]。1時間阻血では血流再開後、インスリンおよびグルカゴン分泌能は維持され、血糖も正常レベルに維持されるが、2～3時間阻血では血流再開後グルカゴン分泌は上昇するがインスリン分泌が上昇しないため血糖は上昇する(図12.8)^[3]。また1時間阻血では、血流再開後のIV-GTTにおけるインスリンは基礎分泌、追加分泌とも維持されている^[3,4]。2～3時間阻血ではインスリン基礎分泌は抑制され、追加分泌はほぼ消失するとされている(図12.9)^[3,4]。

³¹P-NMRを用いた虚血膵の検討では、1時間の温阻血では無機リンピークの増大、細胞内アシドーシスを反映する化学シフト、およびATP量を意味するβ-ATPの消失が認められるが、血流再開後1時間で無機リンピークとその化学シフトは改善し、β-ATPは回復する。しかし2時間以上の温阻

血では無機リンピークの増大と化学シフト、およびβ-ATPの消失は改善しない(図12.10)^[5]。ATPと無機リンの比(β-ATP/Pi)は phosphorylation ratio と呼ばれ細胞内のリン酸化率を示すとされ、1時間温阻血では阻血解除後β-ATP/Pi比は徐々に回復するが、2時間以上の温阻血では血流再開後も回復しない(図12.11)^[5]。

またイヌ膵臓移植における実験的検討では、移植膵に浮腫をきたし、移植膵重量が増加することが示されている。おそらく保存中のNa⁺/K⁺-ATPase活

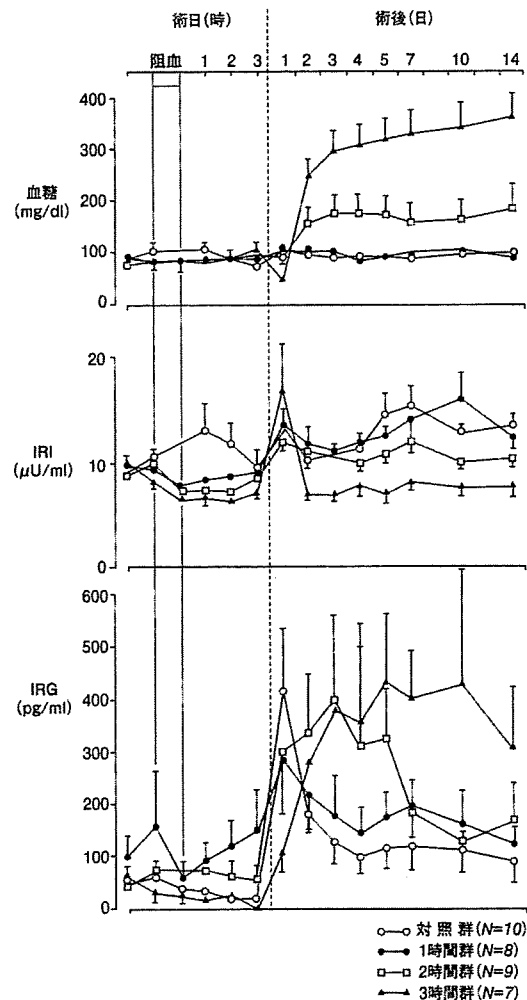


図12.8 温阻血後における血中グルコース(上)、インスリン(中)、グルカゴン(下)の推移。*: $p < 0.05$ (vs. 対照群), #: $p < 0.05$ (vs. 1時間温阻血群), b: $p < 0.05$ (vs. 2時間温阻血群)。

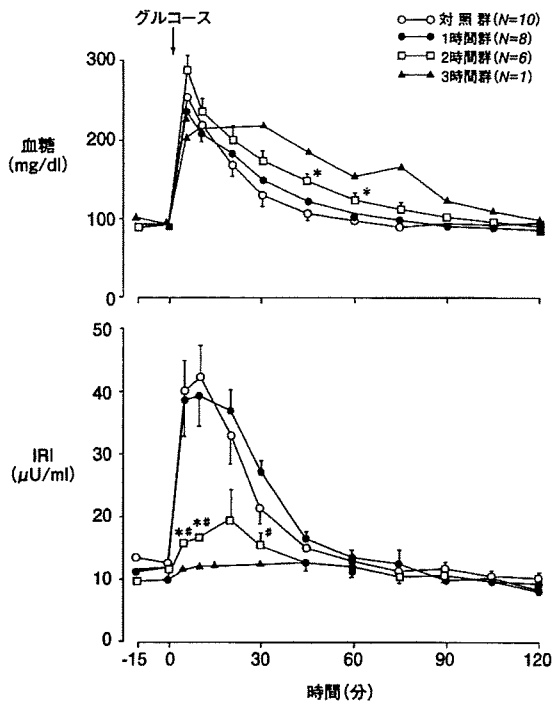


図 12.9 温阻血後における IV-GTT における血中グルコース (上), インスリン (下) の推移. *: $p < 0.05$ (vs. 対照群), #: $p < 0.05$ (vs. 1 時間温阻血群).

性の低下, さらに再灌流時に血管内皮細胞が傷害され, 血管の透過性が亢進して移植臓の浮腫をきたしたものと推定される. さらに血流再開後脾静脈血における TXB_2 が増加し, $6\text{-keto-PGF}_{1\alpha}$ が減少すると報告されており, これは脾静脈血中の TXA_2/PGI_2 比が上昇することを示している [6]. 保存中の内皮細胞の虚血傷害, 再灌流時の内皮傷害とそれによる血小板活性化が TXA_2 の放出と PGI_2 の産生低下に関与しているものと考えられる.

b. 臨床的検討

心停止ドナーからの臓器移植の検討では, 温阻血 30 分以上で, 血流再開後 1 時間の移植臓生検において高度の赤血球の連鎖形成 (rouleau formation) が認められ, すでに毛細血管レベルでは血流障害が認められている (図 12.12) [7]. この症例では移植後 7 時間で移植臓血管の血栓形成に至り, 移植臓を

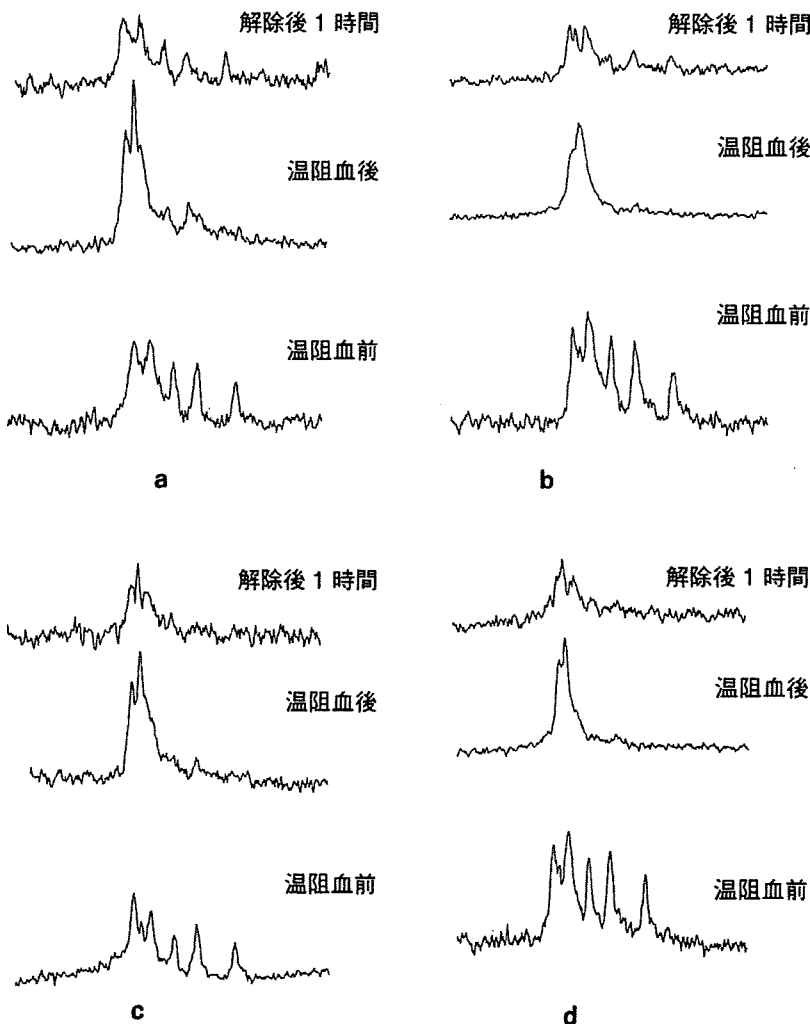


図 12.10 温阻血後および血流再開後 1 時間における ^{31}P -NMR スペクトル. 上段左: 1 時間阻血 (a), 右: 2 時間阻血 (b), 下段左: 3 時間阻血 (c), 右: 4 時間阻血 (d). 温阻血後 $\beta\text{-ATP}$ は消失し, 血流再開後 1 時間で a 群, b 群では回復するが, c 群, d 群では回復しない. 回復率は a 群で最も高い.

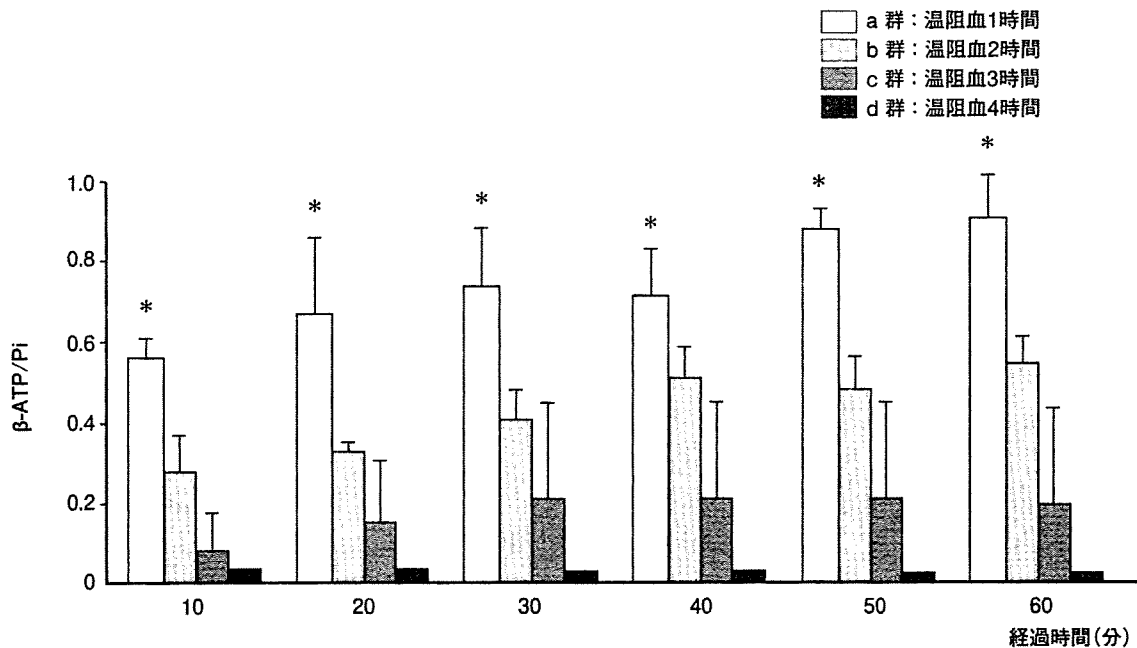


図 12.11 各群における温阻血解除後の β -ATP/Pi 比の変化。横軸は温阻血解除後の経過時間を示す。a 群（温阻血 1 時間）は他の群に対し有意に高値（* : $p < 0.05$ ）。温阻血時間の延長に伴い β -ATP/Pi 比の回復率は低下した。

摘出した。この事実は移植血栓形成の機序として、毛細血管レベルにおける赤血球連鎖形成から微小血栓形成が先行し、次第に血流障害に陥って最終的に移植血栓形成に至る可能性を示唆している^[7]。

また腺房細胞の膨化と毛細血管内腔の狭小化、内皮細胞の腫大、好中球の内皮細胞への接着と毛細血管の閉塞などが認められる。これらは毛細血管レベルにおける血流障害の発生機序に、虚血による腺房細胞の腫大と毛細血管の狭小化、内皮細胞の活性化/傷害と好中球の接着なども関与している可能性を示唆していると言えよう。

2.2 虚血再灌流傷害

血流再開後、局所に遊走した好中球は L-selectin を発現し、血管内皮上に発現した P-selectin, E-selectin を介して内皮表面上でローリング (rolling) 現象を起こし、ついで好中球は膜表面に Mac-1, LFA-1 を発現し、内皮上に発現した ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 を介して内皮に接着、さらに血管外に遊走する（組織浸潤）^[8]。内皮細胞に接着した好中球はエラスターゼなどのプロテアーゼを放出し、直接内皮を傷害する。同時に好中球により産生されるスーパーオキシド ($O_2\cdot$) は血管内皮で産生された一酸化窒素 (NO) と反応して、ペルオキ

シニトライト ($ONOO\cdot$) が産生される。ONOO \cdot は H^+ と反応して、ヒドロキシラジカル ($\cdot OH$) と NO_2 を産生する (図 12.13)^[9]。これらの活性酸素種 (ROS) は内皮細胞を強く傷害する。もとより生体は $O_2\cdot$ を SOD/カタラーゼ系, GSH/GSSG 系により消去するが、この生体の消去系を上回る ROS が産生されると、内皮細胞傷害、血小板活性化、血管透過性の亢進、血管攣縮から血流障害を引き起こす。

好中球はさらに血小板活性化因子 (PAF)、種々のロイコトリエン (LT) を産生し、前者は血小板、好中

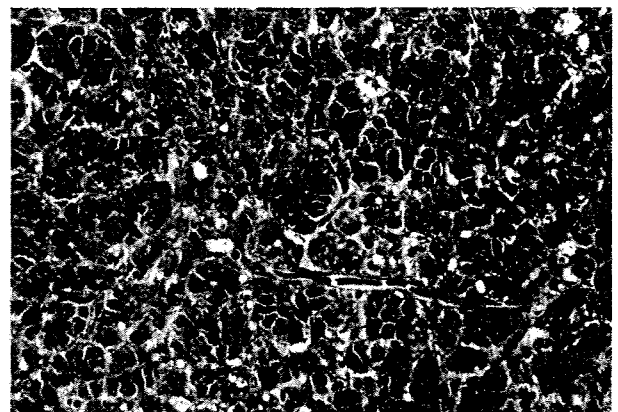


図 12.12 血流再開 1 時間後の移植臓生検で認められた、毛細血管内の赤血球連鎖形成。カラー口絵参照。

球を活性化して、血管透過性、平滑筋収縮を亢進させ、後者のうち LTB_4 は好中球遊走、粘着、ROS 産生を、 LTC_4 、 LTD_4 は血管透過性、平滑筋収縮を亢進させる。さらに好中球により産生される TNF、IL-1、IL-8 は内皮傷害を促進し、同じく活性化血小板から遊離される PAF も内皮傷害に関与する。活性化した血小板から遊離される TXA_2 は血小板凝集をさらに促進し、血管収縮を引き起こす。

内皮傷害によりトロンボモジュリン、プロテイン C、 PGL_2 、eNOS による NO 産生は低下し、凝固系活性化、血管収縮、血小板活性化はさらに促進される。

すでに述べたようにイヌ臓器移植における実験的検討では、移植臓器に浮腫をきたし、移植臓器重量が増加することが示されている。おそらく再還流時に血管内皮細胞が傷害され、血管の透過性が亢進して移植臓器の浮腫をきたしたものと推定される。さらに血流再開後脾静脈血における TXB_2 が増加し、6-keto- $PGF_{1\alpha}$ が減少すると報告されており、これは脾静脈血中の TXA_2/PGL_2 比が上昇することを示している^[6]。虚血再灌流による内皮傷害とそれによる血小板活性化が TXA_2 の放出と PGL_2 の産生低下に関与しているものと考えられる。

3 移植臓器血栓症

3.1 移植臓器血栓症に関与する因子

免疫抑制法の進歩により移植臓器の immunological loss は減少し、1%前後とされており、移植臓器血栓

症は臓器移植後の最大の問題と言っても過言ではない。University of Wisconsin (UW) 液の臨床への導入により、臓器移植後の血栓症の頻度は減少したが、いったん血栓症を併発すると移植臓器は壊死に陥り、移植臓器摘出を余儀なくされる。移植臓器血栓症の発生頻度は5~7%とされ、その克服は今なお臓器移植の成績向上においては重要な課題であることには変わりはない。移植臓器血栓症に関与する因子を表12.11に示す。

a. 臓器虚血

すでに述べたように臓器虚血および保存中に血管透過性の亢進、 Na^+/K^+ -ATPase の低下により腺房細胞の浮腫による毛細血管の狭小化、内皮傷害をきたす。また播種性血管内凝固 (DIC) が併存する場合は、毛細血管内にフィブリン血栓を起こす。臓器の血管構築は腺房細胞と臓器島が直列となっており、腺房細胞での血流障害は臓器島の血流障害を招来する。また内皮傷害によりトロンボモジュリン、プロテイン C、 PGL_2 、NO 産生は低下し、凝固系活性化、血管収縮、血小板活性化はさらに促進される。

b. 虚血再灌流傷害

血流再開とともに内皮に接着した好中球から放出されるエラスターゼ、ROS、PAF、LT、サイトカインにより、内皮傷害はさらに促進される。この結果トロンボモジュリン、プロテイン C は低下し、 PGL_2 産生低下は同時に亢進する TXA_2 産生と相まって血管内凝固を促進させる。

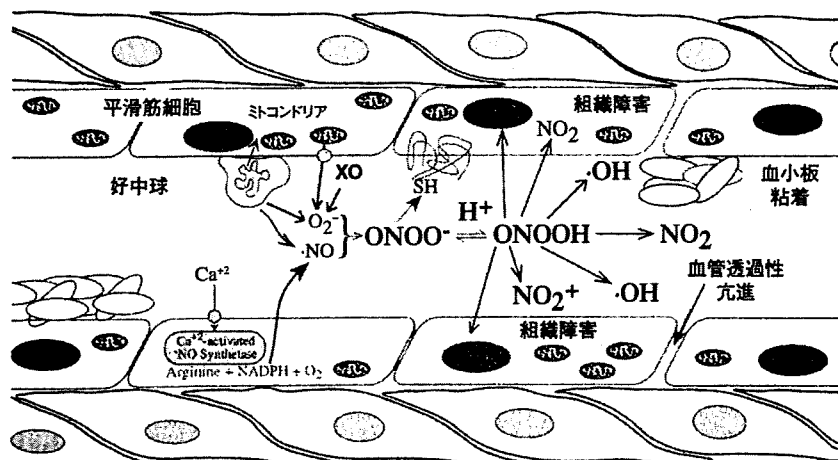


図 12.13 虚血再灌流傷害における活性酸素種産生と血管内皮傷害. 文献 [9] より引用.