



Title	臓器移植における抗ドナー特異的抗体産生に対するPI3K 選択的阻害剤の抑制効果 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	丸井, 崇則
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 乙第7107号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/79709
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Takanori_Marui_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：丸井 崇則

学位論文題名

臓器移植における抗ドナー特異的抗体産生に 対する PI3K δ 選択的阻害剤の抑制効果

臓器移植後に起こる拒絶反応は、急性拒絶と慢性拒絶に大別される。このうち急性拒絶は T 細胞依存的な免疫反応によって起こる。タクロリムスやミコフェノール酸モフェチル (MMF) などの免疫抑制剤によって T 細胞の活性化は制御することが可能なため、現在の移植医療においては、急性拒絶はコントロールされている。一方、慢性拒絶は現在の免疫抑制剤では十分に制御できておらず、長期の移植臓器生着を達成することは現在の医療においても未だ困難である。慢性拒絶反応の原因の 1 つは、ドナー特異的抗体 (donor specific antibody: DSA) に依存する抗体媒介拒絶反応 (antibody-mediated rejection: AMR) に依るものである。B 細胞の増殖・活性化を発端として産生される抗体は、感染から身体を守る上で重要な役割を果たすが、臓器移植時に DSA が過剰に産生された場合には AMR によって移植臓器が拒絶されるリスクが上昇する。従って、DSA 産生を抑制することは、AMR を防ぎ、移植臓器生着期間を延長するために重要である。また、獣医療において、ネコの慢性腎臓病は臨床的に問題となる疾患であり、根本的治療法は未だ存在しない。腎臓移植を行うことが根本的治療法となるため、腎臓移植法が確立されることが期待されている。しかし、腎臓移植を実施したレシピエントネコの生存率は低く、免疫抑制剤の使用方法を標準化し、生着率を上げることが課題となっている。

脂質キナーゼファミリーのメンバーである phosphatidylinositol 3-kinase p110 δ (PI3K δ) は、B 細胞の活性化と増殖の重要なメディエーターである。現在、低分子の PI3K δ 阻害剤が B 細胞リンパ腫を適応として承認され、使用されている。しかし、抗体産生に対する PI3K δ 阻害剤の効果は解明されていない。本研究では、アステラス製薬株式会社にて新規に合成された PI3K δ 阻害剤である AS2541019 の B 細胞免疫と抗体産生に対する作用を検討した。さらに本研究において、AS2541019 のげっ歯類および非ヒト霊長類臓器移植モデルを用いて、DSA 産生に対する作用を評価した。

AS2541019 は IC₅₀ 値 20.1 nM で PI3K δ 酵素活性を阻害したが、PI3K α 、PI3K β 、PI3K γ の酵素活性阻害作用の IC₅₀ 値は全て μ M 単位の範囲かそれ以上であった。こ

れにより、AS2541019 は高い選択性を有する PI3K δ 阻害剤であることが示された。次に、ラット脾臓細胞、カニクイザル peripheral blood mononuclear cells (PBMC) およびヒト PBMC からリンパ球を単離し、AS2541019 の B 細胞活性化に対する作用を *in vitro* で検討した。AS2541019 は anti-IgM 刺激による B 細胞の増殖を濃度依存的に阻害し、その効果がラット (IC₅₀: 4.3 nM)、カニクイザル (16.1 nM) およびヒト (3.6 nM) において観察され、大きな種差は認められなかった。また、AS2541019 は anti-IgM 刺激による B 細胞の major histocompatibility complex (MHC) クラス II の発現上昇を濃度依存的に抑制し、その効果についても同様にラット (IC₅₀: 16.3 nM)、カニクイザル (60.6 nM) およびヒト (13.2 nM) において観察され、大きな種差は認められなかった。

AS2541019 (2 mg/kg) の経口投与により、ラット末梢血中 B 細胞における MHC クラス II 発現が抑制され、その効果は投与から 16 時間後においても維持された。次に、種々の *in vivo* 試験を実施し、AS2541019 の抗体産生に対する効果を検討した。AS2541019 (1-20 mg/kg) の経口投与により、ラット抗体産生モデルにおける T 細胞依存性的および T 細胞非依存性的抗体産生が有意に抑制された。また、ラットを用いたリコール応答による抗体産生モデルにおいても、AS2541019 (5 mg/kg) は 2 回目の免疫によって誘導される抗体産生を抑制した。抗体産生抑制作用のメカニズムを解析したところ、MMF は B 細胞数を減少させたが、AS2541019 は B 細胞数を減少させず、IgG へのクラススイッチを抑制した。これにより、AS2541019 は MMF とは異なるメカニズムで抗体産生を抑制することが示された。

さらに臓器移植における AS2541019 の効果を明らかにするため、複数の臓器移植モデルを用いて DSA 産生に対する作用を検討した。ラット同種間心臓移植モデルにおいて、タクロリムス (0.02 mg/kg) 筋肉内投与と MMF (15 mg/kg) の経口投与を併用したところ、移植心臓生着期間が著しく延長されたが、DSA 産生は残存した。タクロリムスおよび MMF にさらに AS2541019 (0.5-2 mg/kg) を併用投与したところ、用量依存的に DSA 産生が抑制された。また、ハムスターからラットへの異種間心臓移植モデルでは、タクロリムス (0.1 mg/kg) の筋肉内投与と MMF (15 mg/kg) の経口投与を併用しても、DSA 産生は残存し、移植心臓生着期間を延長しなかった。タクロリムスおよび MMF にさらに AS2541019 (1-4 mg/kg) を併用投与したところ、異種反応性抗体の産生が用量依存的に抑制され、移植心臓の生着期間を有意に延長した。これらの結果から、AS2541019 はタクロリムスおよび MMF 併用による標準的免疫療法後でも残存する DSA 産生を抑制し、移植臓器生着期間を延長することが示唆された。

霊長類の免疫系がげっ歯類の免疫系と著しく異なることから、ヒトの臨床における効果を予測するためには、非ヒト霊長類を用いた検討が必要である。そこで、カニクイザルを用いた種々の検討を行った。AS2541019 (3 および 10 mg/kg) をカニクイザルに経口投与したところ、末梢血中 B 細胞における MHC クラス II 発現が抑制された。さらに、サル抗破傷風トキソイド抗体産生モデルにおいて、タクロリムス (1 mg/kg) および MMF (20 mg/kg) 投与でなお残存する抗体産生を、AS2541019 (1 および 3 mg/kg) が用量依存的に抑制した。カニクイザルの同種間腎臓移植モデル

において、タクロリムス (1 mg/kg) および MMF (20 mg/kg) の併用により移植腎臓生着期間が延長されることが示されているが、同じ処置により DSA 産生は完全には抑制されなかった。これは、タクロリムスおよび MMF の併用により急性拒絶が抑制されるが、DSA 産生は完全に抑制できないという臨床の状態を反映していると考えられた。タクロリムスおよび MMF に、さらに AS2541019 (2 および 3 mg/kg) を併用投与したところ、DSA 産生が AS2541019 の用量依存的に抑制された。これにより、サル腎臓移植モデルにおいて、タクロリムスおよび MMF による治療を行ってもなお残存する DSA 産生を、AS2541019 が抑制することが示された。

本研究の結果により、選択的 PI3K δ 阻害剤 AS2541019 が B 細胞活性化に対する強力な阻害効果により抗体産生を抑制することが証明された。また、AS2541019 が、DSA 産生を阻害することにより AMR の発症を防ぐことができる有望な候補物質であることが示された。さらに、ラット、サル、ヒト間で有効性に大きな種差は認められなかったことから、AS2541019 はヒトの臨床においても DSA 産生を抑制することが推測され、現在の移植医療における重要課題である AMR およびそれに付随する慢性拒絶の発症を抑制できる可能性が示された。