京都大学	博士（　医学　）	氏　名	日下部　治郎
論文題目	Complement 5 inhibition ameliorates hepatic ischemia/reperfusion injury in mice, dominantly via the C5a-mediated cascade.（補体 C5 阻害は、主に C5a 経路の抑制を介してマウス肝虚血再灌流障害を抑制する）		

（論文内容の要旨）

【背景と目的】

肝虚血/再灌流傷害(Ischemia/Reperfusion Injury: IRI)は、移植片機能不全の主要因の一つである。世界的かつ慢性的なドナー不足を背景に 近年増加傾向にある拡大適応ドナー(心停止後摘出臓器、脂肪肝ドナー等)は IRI に特に脆弱であり、IRI 克服に向けた治療法の開発は依然 固形臓器移植における重要な課題である。

補体は最も原始的な自然免疫系として認知されてきたが、近年の抗ヒト C5 抗体エクリズマブの登場により，血液疾患や神経変性疾患等これまで根本的治療法はおろか その病態すら未解明であった難病群における補体の中心的な病態関与と、補体制御の劇的な治療効果が明らかになってきた。今回、マウス肝 IRI モデルを用いて同病態に対する C5 制御の有効性とその保護機構を検証した。

【方法】

野生型(B10D2/nSn)及び C5 欠損マウス(B10D2/oSn)に抗 C5 抗体(BB5.1)或いはコントロール抗体(mouse IgG-1 isotype)を経静脈投与し、中左葉に対する 70%部分肝虚血(90 分)/再灌流を施行し各群における傷害を検討した。更に炎症惹起物質 C5a と終末補体複合体 C5b-9 (MAC)の病態関与を比較するため、C5a 経路のみを阻害する抗 C5a 受容体抗体(PMX53)を経静脈投与して、その保護効果を全 C5(C5a＋C5b-9)阻害と比較検討した。

【結果】

血中補体活性は，虚血中から徐々に上昇し再灌流２時間で最大となり２4 時間後に前値に復した。血清肝逸脱酵素 ALT 値は 6 時間後に最高値となり、抗 C5 抗体で著明に抑制され(18,417±1,433 *vs.* 3,138±649: $P<0.001$)、その保護効果は C5 欠損と同等であり、病理組織学的にも確認された($P<0.001$)。再灌流後 2 時間では、抗 C5 抗体、C5 欠損により血小板凝集(CD41 免疫染色: $P<0.01$)が有意に抑制された。またクッパー細胞を中心とした F4/80 陽性細胞数が維持された。6 時間後では更に、サイトカイン・ケモカインの発現、浸潤性マクロファージ(CD11b+: $P<0.001$)、好中球(Ly6G+: $P<0.001$)浸潤やアポトーシス(ssDNA 染色: $P<0.001$; Cleaved-Caspase-3 発現: $P=0.021$)の抑制が確認された。C5a 阻害は抗 C5 抗体と同等の肝保護効果(ALT: $P<0.001$)を示した一方で、アポトーシスや好中球浸潤は全 C5 阻害でより抑制される傾向にあった。

【考察】

補体系は 強力なアナフィラトキシンである C5a 依存的に肝 IRI 病態を増幅すること、また同病態における C5 制御の有効性が示された。その保護機構として、再灌流後早期の類洞内血小板凝集の抑制と 肝恒常性維持にも寄与するクッパー細胞の維持、後期での炎症細胞浸潤とアポトーシスの抑制が寄与していることが確認された。既に様々な疾患で臨床応用されているエクリズマブの安全性を鑑みれば、補体 C5 阻害は肝移植を含む臓器移植や肝臓外科における新たな治療戦略になり得ると考えられる。

（論文審査の結果の要旨）

肝移植を含む臓器移植や肝臓外科において、虚血再灌流傷害の制御は重要な課題である。今回申請者は、マウスの 70%部分肝虚血モデルを用いて、抗 C5 抗体による虚血再灌流傷害の抑制効果について検討を行った。また C5a 経路のみを阻害する抗 C5a 受容体阻害剤を投与して、その保護効果を全 C5(C5a＋C5b-9)阻害と比較検討した。

抗 C5 抗体、C5 欠損により、再灌流後早期から肝酵素逸脱及び HMGB-1 の放出抑制を認め、傷害がピークとなる再灌流 6 時間後では、肝酵素逸脱は有意に抑制された。その保護機構として、再灌流後早期での類洞内血小板凝集の抑制と、肝恒常性維持にも寄与するクッパー細胞を中心とした F4/80 陽性細胞の維持、後期での炎症細胞(CD11b 陽性細胞)浸潤とアポトーシスの抑制が寄与していることが確認された。C5a 受容体阻害剤は抗 C5 抗体と同等の肝保護効果を示した一方で、アポトーシスと好中球浸潤は全 C5 阻害でより抑制される傾向にあった。

様々な疾患で既に臨床応用されている抗ヒト C5 抗体（エクリズマブ）の安全性、そして本研究でも示されたその有効性を鑑みれば、抗 C5 抗体が肝虚血再灌流傷害の克服に向けた 新たな治療戦略の一つとなる可能性が示された。

以上の研究は、肝虚血再灌流傷害の解明と補体制御治療の発展に貢献し、肝移植を含む移植医療と肝切除を含む肝臓外科の成績改善に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和　2年　6月　２６日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降