京都大学	博士（　医　学　）	氏　名	岡本　竜弥
論文題目	Immunological tolerance in a mouse model of immune-mediated liver injury induced by16,16 dimethyl PGE2 and PGE2-containing nanoscale hydrogels (マウス免疫誘発肝障害モデルにおいて、16,16 ジメチル化プロスタグランジン E2 (PGE2) 及び PGE2 含有ナノハイドロゲルの投与は免疫寛容を誘導する)		

（論文内容の要旨）

カルシニューリン阻害剤をはじめとする免疫抑制剤の登場により、拒絶反応のコントロールが可能となったことで、臓器移植の治療成績は飛躍的に向上し、現在では、臓器移植医療は各臓器不全に対する根本的な治療法として確立されている。その一方で、免疫抑制剤の長期投与は、慢性腎障害や、グラフト臓器の繊維化などの難治性合併症を引き起こす事も判明して来ており、カルシニューリン阻害剤のみに頼らない新たな免疫制御法の開発、特にドナー特異的な免疫寛容導入法の確立は、移植後長期成績の更なる向上にとって検討されるべき重要な課題である。

近年、生体内分解性吸収材料を軸とした組織工学（Tissue Engineering）技術を用いて、細胞成長因子（Growth factor）などのシグナル分子を組織障害部位へ徐放（control release）することにより、治癒、再生が促進される事が報告されている。この技術を適応、自然免疫応答に関連するシグナル分子に応用し、その体内動態を変化させることは、免疫応答の制御、また免疫応答に伴う組織障害の抑制を促す可能性があると考えられる。そこで、本研究では、炎症性メディエーターの１種であるプロスタグランジン E2 (PGE2)の持つ免疫抑制効果に着目し、これに生体内分解性高分子からなるドラッグデリバリーを応用することで、免疫応答の制御が可能となるか否かを、マウスにおける免疫誘導的な肝障害モデルを用いて検討した。

レクチンの１種であるコンカナバリン A (Con A)は、マウスにおいて、肝 Natural killer T (NKT)細胞に発現する糖鎖認識受容体により抗原認識されて NKT 細胞での Interferon (IFN)-γ 産生を促進し、自己免疫性肝炎様の肝障害を引き起こすことが知られている。本研究では、C57B/6 マウスに対して Con A を経静脈的に投与することで、この肝障害を誘発した。続いて、合成 PGE2 誘導体の 1 種である 16,16,ジメチル化 PGE2（dmPGE2）を経静脈的に前投薬し、その後に肝障害を誘発してみたところ、Con A に対する不応答性、寛容が誘導され、肝障害が著明に抑制された。この効果は、抗炎症性サイトカインの 1 種である Interleukin (IL)-10 の肝 Kupffer 細胞における発現上昇と関連するものと推測されたが、抗体を用いた IL-10 シグナルの阻害実験においては、dmPGE2 による寛容の誘導は完全には阻害されず、他因子の関連も示唆された。

一方、生体内エイコサノイドであるPGE2 による同様の前投薬実験では、Con A誘発肝障害の抑制は認められなかった。dmPGE2 と比較してPGE2 の血中半減期は極めて短く、このPGE$_2$分子の血中不安定性が、in vivoにおけるPGE$_2$投与の免疫抑制効果を阻害している原因ではないかと想定されたため、生体内分解性高分子からなるドラッグキャリアを応用して分子安定性を向上させることが出来るか否かを引き続いて検討した。多糖の１種であるプルラン（M_n 81,300, M_w/M_n = 1.41）の側鎖にL-乳酸オリゴマー(M_n 950, DP = 10.7)を導入した分子を新規に合成し（L-乳酸オリゴマー導入プルラン；Pul-g-LLAo）、^{1}H-NMR及び動的光散乱法を用いてこの分子のキャラクタリゼーションを確認したところ、Pul-g-LLAoは水環境中で自己会合的に平均粒子径 130nm程度のハイドロゲル粒子を形成する事、またピレンを用いた臨界ミセル濃度測定により界面活性能を持つ事が確認された。このPul-g-LLAoからなるハイドロゲル水溶液中にPGE2 を溶解することでPGE2 内包ハイドロゲル粒子（PGE2-nanogel）を作成し、ICRマウスに対してこれを単回静脈内投与してPGE2 の薬物動態を質量分析装置（LC/MS/MS）により測定したところ、血中半減期の有意な延長が認められた。そこで、このPGE2-nanogel を用いて前述の前投薬実験を再検討したところ、dmPGE2 投与時と同様の肝障害抑制効果を得ることが可能となった。

以上の結果から、生体内分解性吸収材料を用いた徐放化 PGE2 製剤により、免疫応答を制御し得る可能性が示された。

（論文審査の結果の要旨）

臓器移植医療の成立には免疫抑制剤の投与が必須であるが、その長期投与には難治性合併症も伴う。そのため、新規免疫制御法の開発は、現在でもこの分野において望まれる検討事項である。

申請者は、コンカナバリン A (Con A)による肝 natural killer-T cell の活性化から誘発されるマウス肝障害モデルを用いて、徐放化 PGE2 製剤による免疫制御の可能性を提示した。合成 PGE2 誘導体の 1 種である 16,16,ジメチル化 PGE2（dmPGE2）の前投与は、C57B/6 マウスにおいて Con A に対する寛容を誘発して肝障害を抑制する。この効果は Prostanoid E receptor subtype 4(EP4)アゴニストの投与により再現され、そのメカニズムの一端に肝 Kupffer 細胞における IL-10 の発現上昇が関与する可能性が示された。さらに、生体内エイコサノイドである PGE2 に対して、生体内分解性高分子であるプルランと、L-乳酸オリゴマーから成るドラッグキャリアを新規に合成して薬物動態修飾を行う事により、この肝障害抑制効果が再現される事を提示した。

以上の研究は、生体内分解性高分子を軸とした薬剤の徐放化技術を免疫応答に関連するシグナル分子に応用することで、免疫応答の制御と組織障害の抑制を促す可能性がある事を示唆したものであり、新たな免疫制御法の開発、ひいては移植医療の発展に寄与するところが大きい。

したがって、本研究は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学授与申請者は、平成 24 年 12 月 14 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