

論文の内容の要旨

氏名：栗田 淳 貴

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：角膜移植後拒絶反応バイオマーカーの探索、および角膜内皮移植マウスモデルの作製と同モデルにおける角膜移植後拒絶反応の評価

【背景と目的】

角膜移植は、混濁した角膜の透明性を回復するための手法である。他の臓器移植と比べ、角膜移植後拒絶の発生率が低いとされるが、機序は不明な点が多い。その研究にマウスモデルが使われるが、拒絶の評価は臨床所見で行われ、術者の主観によるという問題がある。私は、全層角膜移植術（PKP: penetrating keratoplasty）マウスモデルを用いて、拒絶反応バイオマーカーの探索を行った。

また、近年では角膜内皮移植術(DSAEK: descemet stripping automated endothelial keratoplasty)などの部分移植が普及してきており、PKP と比べ、拒絶が起こりにくいとされるが、その機序は不明である。私は、新たな DSAEK マウスモデルを作製するとともに、PKP マウスモデルとの比較から、角膜移植後拒絶反応について検討した。

【方法】

同種同系 PKP マウスモデル（PKP iso, n=6）、同種異系 PKP マウスモデル（PKP allo, n=6）を作製した。レシピエントに BALB/c マウス（BALB/c）、PKP iso のドナーに BALB/c、PKP allo のドナーに C57/BL6 マウス（B6）を用いた。術 4 週後の移植片の混濁の程度をスコア化し、評価を行った。評価後、PKP allo の移植片を用い、polymerase chain reaction（PCR）array 法による遺伝子発現の多項目同時解析、quantitative real-time reversed transcription PCR（qRT-PCR）法による特定の遺伝子の mRNA 発現量を求めた。

内皮側移植片を同種異系とした DSAEK マウスモデル（DSAEK, n=6）を作製した。レシピエントに BALB/c、ドナーに BALB/c の角膜上皮～実質浅層と、B6 の実質深層～内皮を用いた。臨床評価、qRT-PCR 法を行い、その結果から統計学的検討を行った。

【結果】

PKP iso 群、PKP allo 群の臨床スコアは、 1.5 ± 0.5 （平均±標準偏差）（点）、 3.0 ± 0.8 だった。PKP iso 群は 6 頭が拒絶なし、PKP allo 群は拒絶ありが 4 頭、なしが 2 頭となり、両群は有意な差を認めた（ $p < 0.030$, Fisher's exact test）。PCR array 法では CD14、CXCL10、CCL5 などの増加がみられた。qRT-PCR 法では、CXCL10 のレセプターである CXCR3 で、両群間に有意な差がみられた（ $p = 0.026$, Mann-Whitney U test）。

DSAEK 群の臨床スコアは 3.0 ± 1.2 、拒絶ありが 5 頭、なしが 1 頭だった。臨床スコアは、PKP iso 群との間に有意な差があり（ $p = 0.0076$, Fisher's exact test）、PKP allo 群との間に差はなかった（ $p = 0.50$ ）。また、qRT-PCR 法では、PKP iso 群を基準とした Steel 検定で、PKP allo 群に CXCR3 の有意な高値がみられ（ $p = 0.046$ ）、DSAEK 群との間に差はなかった（ $p = 0.637$ ）。

【結論】

PKP iso 群と PKP allo 群の比較により、CXCR3 mRNA 発現量に差がみられ、CXCR3 は PKP マウスモデルの拒絶反応バイオマーカーとなりうると考えられた。

また、DSAEK マウスモデルは、臨床スコアは高値を、CXCR3 は低値を示した。臨床スコアは拒絶反応による特異的炎症と、施術に伴う非特異的炎症が影響し、CXCR3 は特異的炎症が影響すると考えられ、DSAEK マウスモデルでは特異的炎症が弱いと考えられた。以上から、DSAEK マウスモデルは、PKP マウスモデルと比較して拒絶が起きにくいことが明らかとなり、実臨床に則したモデルとなりうると思われた。