

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  
(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程  
外科系眼科学専攻

栗田 淳貴

修了年 2021 年

指導教員: 山上 聡

## [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、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。我々は、全層角膜移植術（PKP: Penetrating keratoplasty）マウスモデルを作り、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、その機序は不明な点が多い。我々は、新たな DSAEK マウスモデルを提唱するとともに、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（C57/BL6）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

術後、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 発現量を調べた。

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、C57/BL6 の実質深層～内皮を用いた。臨床評価、qRT-PCR 法を行い、得られた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、 $1.5 \pm 0.5$  (平均±標準偏差) (点)、 $3.0 \pm 0.8$  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  $3.0 \pm 1.2$ 、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解り、実臨床に則したモデルとなりうると考えられた。