

Title	ラット肝移植における免疫学的特異性の解析 移植肝内 Ia 抗原の経時的変化とそれにもなう免疫原性の変化
Author(s)	久保田, 直行
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36747">https://hdl.handle.net/11094/36747</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【36】

氏名・(本籍)	久保田直行
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8785 号
学位授与の日付	平成元年 7 月 5 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	ラット肝移植における免疫学的特異性の解析 移植肝内 Ia 抗原の経時的变化とそれにともなう免疫原性の変化
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 園田 孝夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

ラット同所性肝移植においては, major histocompatibility complex (MHC) が不適合であっても同種移植肝が永久生着することがある。しかも, その場合 donor 特異的な tolerance が誘導され, 肝移植後 donor 系の皮膚や心臓を移植するとそれらの移植臓器は永久生着すると報告されている。今回用いた AC I より Wistar ラットへの同所性肝移植においては, 移植肝は免疫抑制剤を用いることなく長期生着したが, donor 系の皮膚を recipient に移植すると拒絶反応が生じた。また, recipient のリンパ球や脾細胞の donor 抗原に対する反応性はよく保たれており, 同時に suppressor 細胞の存在も証明されなかった。そこで, 著者はこの系における移植肝の長期生着のメカニズムの一つとして抗原性の低下あるいは消失を仮定し, 移植後経時的に donor 由来 Ia 抗原の変化を検討した。また, その変化が移植肝の免疫原性を実際に変化させているかどうかを移植肝の再移植という方法で検討した。

#### (方 法)

ラット同所性肝移植: 雄性的 AC I および Wistar ラット 8-10 週齢で体重 180-250 g のものを用いた。肝移植は, Kamada のカフ法を一部変更し, AC I を donor, Wistar を recipient として行い, 免疫抑制剤は全く使用しなかった。

組織学および免疫組織学的染色: 移植後 1, 2, 4 週目および 8 週目以後に recipient を屠殺し移植肝を摘出, H-E 染色と免疫組織学的染色を行った。肝内の Kupffer 細胞および貪食細胞を同定するため, 屠殺 6 時間前に門脈よりコロイドカーボン液を 0.5ml 静注した。摘出肝の一部は 10%ホルマリン液で固定後 H-E 染色を行い, 他は適当な大きさに細片し, OCT コンパウンドに包埋後直ちに液体室

素にて凍結、保存した。染色は凍結後 2 週間以内に間接酵素抗体法にて行った。染色に用いたモノクローナル抗体は、Serotec 社のマウス抗ラットモノクローナル抗体 OX-3 および OX-6 である。OX-3 は Wistar 系の Ia 抗原を認識するが、ACI 系の Ia 抗原とは結合しない抗体であり、OX-6 はすべてのラットの Ia 抗原と反応する抗体である。

免疫組織化学的染色結果の評価：コロイドカーボンを摂取した貪食細胞に対する OX-3 および OX-6 陽性細胞の割合を算出した。一切片について少なくとも 10 視野を検討し、それを平均した。

移植肝細片の腎被膜下への再移植：移植後 2 週目と 20 週以上生着した移植肝を用いた。コントロールとしては、正常 ACI および 20-30 週齢の Wistar の肝を用いた。Recipient としては 10-15 週齢の Wistar の雄を使用した。肝を摘出し冷 RPMI 1640 (4℃) 中で 3-4 mm の大きさに細切し、エーテル麻酔下で開腹した recipient の腎被膜下へ移植した。Recipient を 1 週間後に屠殺し、摘出した腎を 10% ホルマリン液で固定後、H-E 染色にて組織学的検討を行った。

#### (結 果)

H-E 染色では、移植後 1 週目に門脈および中心静脈周囲に少数の単核細胞浸潤がみられた。2 週目より 4 週目にかけて細胞浸潤の程度は強くなったが、移植後 8 週目には浸潤細胞数は著しく減少した。

免疫組織化学的染色の結果では、正常肝において Ia 抗原を表現している細胞は門脈域および中心静脈域周囲の樹状細胞 (dendritic cell) のみで Kupffer 細胞や肝実質細胞は、Ia 抗原陰性であった。一方、移植された肝臓では、移植後 2 週から 4 週目にかけて小葉内の貪食細胞は Ia 抗原陽性となった。さらに、この時期には donor 系貪食細胞数は減少し、逆に recipient 系の細胞数は増加していることが明らかとなり、donor の Kupffer 細胞が recipient の貪食細胞によって置換されたものと思われた。8 週以上経過した症例では、小葉内の貪食細胞は Ia 抗原陰性となり、recipient 系の Ia 抗原陽性細胞が門脈および中心静脈周囲にみられるのみであった。また、樹状細胞の存在は移植後浸潤してきた recipient の細胞に取り囲まれ、1 週目以後同定できなくなった。

移植肝の再移植実験では、肝移植後 2 週目の移植片は正常 ACI 肝と同様に拒絶されたが、肝移植後長期生着した移植片は再移植しても拒絶されなかった。

#### (総 括)

ACI より Wistar へのラット同所性肝移植では、移植肝は免疫抑制剤なしで長期生着した。その生着メカニズムを検討するため、移植肝の H-E 染色と免疫組織化学的染色を経時的に行い、以下のことが明らかとなった。

この系での移植肝は長期生着するが、組織学的には移植後 2 週目から 4 週目にかけて移植肝への単核細胞浸潤が増強し、また同時に、移植肝内のすべての Kupffer 細胞が Ia 抗原を提示していた。従って、この時期には移植肝に対する免疫反応 (拒絶反応) が生じているものと推察される。しかしこの Ia 抗原提示細胞をモノクローナル抗体を用いて donor 由来と recipient 由来に分類してみたところ、移植後 2 週目まで大半を占めていた donor 由来の細胞は、移植後 4 週目から 8 週目にかけて著しく減少することが明らかとなった。また、再移植実験でも長期生着中の移植肝は拒絶されず、免疫原性が低下していることが確認された。以上、今回用いたラット肝移植では、移植肝内の donor 由来の Ia 抗原提示細

胞が recipient 由来の細胞に置換され、免疫原性が低下し、そのため recipient の免疫監視機構を逃れて移植肝が長期生着しているものと考えられた。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は、ラット同所性肝移植において、移植肝内の Ia 抗原の変化を経時的に検討したものである。その結果、長期生着肝ではドナー系 Ia 抗原提示細胞がレシピエント系細胞によって置き換えられることにより、ドナー系の Ia 抗原性が著しく低下していることが明らかとなった。さらに、この長期生着肝は正常レシピエントに再移植しても拒絶されず、免疫原性が低下していることが認められた。

これらの知見は、移植肝の免疫原性の低下が移植肝長期生着の重要なメカニズムであることを示しており、臨床肝移植における免疫抑制法の開発に有用で、学位に値すると思われる。