

Title	The Role of Group 3–5 Cyclopentadienylmetal Complexes in Organic and polymer Synthesis
Author(s)	山本, 仁
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/37537
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	やま 山	もと 本	ひとし 仁
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9 2 5 9	号
学位授与の日付	平成 2 年 6 月 7 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	ROLES OF CD8 ⁺ AND CD4 ⁺ CELLS IN ISLET ALLOGRAFT REJECTION (同種移植ラ氏島の拒絶反応におけるCD8陽性細胞及びCD4陽性細胞の役割)		
論文審査委員	(主査) 教授	森 武貞	
	(副査) 教授	垂井清一郎	教授 園田 孝夫

論文内容の要旨

〔目的〕

膵ラ氏島B細胞はclass I抗原のみを表現するという特徴を持ち、同種移植された場合、通常の膵臓移植に比し拒絶反応が緩徐であることが知られている。しかしながら、その拒絶反応のメカニズムについて詳細な検討は未だなされていない。本研究では、マウスを用いて組織適合抗原の異なるドナー・レシピエントの種々の組合せでラ氏島移植をおこない、CD8、CD4に対するモノクローナル抗体(mAb)であるanti-Lyt-2.2 mAb, anti-L3T4 mAbの生体内投与による移植ラ氏島の生着延長効果を調べ、マウス移植ラ氏島の拒絶反応におけるCD8陽性細胞、CD4陽性細胞の役割を検討した。

〔方法ならびに成績〕

1) ラ氏島移植

ラ氏島はcollagenase digestion method, Ficoll gradient separation methodにより採取し、400-500個のラ氏島をstreptozotocin(225-250mg/kg ip)にて作成した糖尿病マウス(血糖値>400mg/dl)の腎被膜下に移植した。移植後、血糖値が200mg/dl以上を示した初日を拒絶日とした。移植はH-2IA不適合(bm12 → B6), H-2K不適合(B10, AQR → B10A), H-2K, IA不適合(B10, A(5R) → B10, A), H-2, non-H-2不適合(BALB/c → B6)の組合せでおこなった(各組合せともn=8)。その結果、H-2IA不適合の組合せでは全例100日以上生着し、他の組合せの平均生着日数(MST)は、H-2K不適合:28.6±14.3日, H-2K, IA不適合:24.3±10.1日, H-2,

non-H-2不適合：17.6±3.5日であった。

2) 抗体投与後の抗体 clearance およびT細胞サブセットの変化

Anti-Lyt-2.2 mAb (mouse IgG 2a), anti-L3T4 mAb (rat IgG 2b) を産生するハイブリドーマはそれぞれSloan-Kettering 癌センター, Chicago 大学より供与を受けた。各 mAb はハイブリドーマを担っているBALB/cマウスの腹水(抗体価は共に1:20,000)をMEMで4倍に希釈し, その0.2 ml を眼球後静脈叢より静脈内投与した。各抗体投与後経時的に血清を採取し, 抗体のclearanceを補体依存性細胞障害性試験にて検討すると, anti-Lyt-2.2 mAbは14日で, anti-L3T4 mAbは7日で消失していた。一方, 各抗体投与後, 末梢リンパ節におけるTリンパ球サブセットの変化をflow cytometryを用いて分析したところ, CD8陽性細胞は約6週間, CD4陽性細胞は約2週間にわたって減少していた。

3) 抗体投与による移植ラ氏島着延長効果

H-2K不適合, H-2K, IA不適合, H-2, non-H-2不適合の組合せで, anti-Lyt-2.2 mAb投与群, anti-L3T4 mAb投与群, 両抗体併用群(各群ともn=8)を作成した。なお, anti-Lyt-2.2 mAbは2-4週間隔, anti-L3T4 mAbは1-2週間隔で約90日間投与した。H-2K不適合, H-2K, IA不適合の組合せでは, anti-Lyt-2.2 mAb, あるいはanti-L3T4 mAbの単独投与で全例100日以上完全生着が得られた。一方, H-2, non-H-2不適合の組合せでは, 抗体非投与群(MST:17.6±3.5日)に比し両抗体とも単独投与にて生着延長効果を認めるものの(MST, anti-Lyt-2.2 mAb:42.8±10.7日, anti-L3T4 mAb:26.7±10.3日), 大半は60日以内に拒絶され, 両抗体を併用投与することによってはじめて100日以上完全生着を得ることができた。

4) 酵素抗体法による移植部位への浸潤細胞の検討

ABC法を用いて, 移植後13日目における浸潤細胞の検討を行った。抗体非投与マウスの場合, H-2IA不適合の組合せでは, 移植部位への浸潤細胞は認められなかったが, H-2K, H-2K, IA, H-2, non-H-2不適合の各組合せではCD8陽性細胞, CD4陽性細胞の著明な浸潤が認められた。各抗体の投与により対応するTリンパ球サブセットは移植部位より消失し, 両抗体投与によりそれらを含め浸潤細胞は消失した。

[総括]

H-2IA不適合の組合せでは, 抗体の投与なしに移植ラ氏島の完全生着が得られ, このことはラ氏島B cellがclass I抗原のみを表現するという特異性によるものと考えられた。H-2K, およびH-2K, IA不適合の組合せでは, anti-Lyt-2.2 mAb, またはanti-L3T4 mAbの単独投与により移植ラ氏島の拒絶反応を完全に抑制できることから, これらの組合せではCD8陽性細胞, CD4陽性細胞は, 拒絶にあたり協同的に働くものと考えられた。H-2, non-H-2不適合の組合せでは, 両抗体投与により初めて完全生着が得られることから, CD8陽性細胞, CD4陽性細胞とも単独でも拒絶反応を引き起こすことが出来ることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、マウス移植ラ氏島の拒絶反応の機序を解析する目的で、遺伝的に異なる donor-recipient の各種組合せにおいて、抗CD4、抗CD8モノクローナル抗体の移植ラ氏島に対する生着延長効果を検討したものである。

その結果、ラ氏島拒絶反応に主として関与するのはCD4陽性細胞、CD8陽性細胞であり、その作用は系により異なることが明らかにされた。すなわち、H-2K不適合、H-2K、IA不適合の系に於ける拒絶反応では両細胞は協同的に働くが、H-2、non-H-2不適合の系ではこの協同作用に加え、CD4陽性細胞のみ、またはCD8陽性細胞のみでも拒絶反応を引き起こすことが示された。さらに、H-2IA不適合の系では拒絶は一切おこらないというラ氏島の特異性も示されている。

本研究は、移植ラ氏島の拒絶反応の効果細胞、およびその動きを明らかにしており、臨床ラ氏島移植における免疫抑制療法の確立の上で重要なものであり、学位に値すると考える。