The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Roles of $CD8^+$ and $CD4^+$ cells in islet allograft rejection
Author(s)	山本, 仁
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37537
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【28】

氏名・(本籍)	山本　仁（やまもと　ひとし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9259 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classⅠ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-2.2mAb（mouse IgG 2a），anti-L３T４mAb（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0.2ml 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-2.2mAbは１４日で，anti-L3T4mAb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生着延長効果

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-2.2mAb投与群，anti-Ｌ３Ｔ４mAb投与群，両抗体併用群（各群ともｎ＝８）を作成した。なお，anti-Lyt-2.2mAbは２－４週間隔，anti-Ｌ３Ｔ４mAb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-2.2mAb，あるいはanti-Ｌ３Ｔ４mAbの単独投与で全例１００日以上の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-2.2mAb：４2.8±１0.7日，anti-Ｌ３Ｔ４mAb：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日以上の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Ｂcell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-2.2mAb，またはanti-Ｌ３Ｔ４mAb 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，およびその働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。