The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Monocyte Hemolytic Activity as an Immunologic Indicator of Allograft Rejection in Rat Skin Transplantation
Author(s)	Moutabarrik, Abdelhakim
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38174
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

氏　　名	Moutabarrik Abdelhakim（ムタバリク アブデルハキム）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学 位 記 番 号	第　10685　号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Monocyte Hemolytic Activity as an Immunologic Indicator of Allograft Rejection in Rat Skin Transplantation **（ラット同種皮膚拒絶反応と免疫学的指標としての溶血活性を示す単球についての研究）**
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授　奥山　明彦 （副査） 教 授　濱岡　利之　　教 授　松田　　暉

論 文 内 容 の 要 旨

（目　　的）

同種臓器移植において，急性拒絶反応時の主な移植組織への浸潤細胞はT細胞と単球・マクロファージ系からなることが，臨床例やラット同種移植実験によって明らかとなっている。単球・マクロファージ系による拒絶反応の組織障害の機序については，単球・マクロファージのin vitroの評価系が普及していないため，その免疫学的な意義はまだ十分に解明されていない。

今回，新しい単球エフェクターの検出法を用い，同種拒絶反応におけるエフェクターとしての単球・マクロファージの関わりをラット同種皮膚移植実験系において検討した。外因性の補体を加えることなしに非特異的溶血（プラーク斑形成）活性を有する単球，Spontaneous Plaque Forming Cell，SPFCをラットに見いだした。赤血球に発現されている血液型物質は拒絶の対象となる移植臓器の血管系などの体細胞上にも発現されていることから，単球エフェクターが溶血活性を示すことは，すなわち赤血球上の型物質を発現する組織に対しても細胞障害をきたすことを意味し，SPFCが移植臓器の拒絶に関わるエフェクターとなることが示唆される。

そこでラット同種皮膚移植を行い，拒絶反応時の移植片から浸潤細胞を分離し，SPFC assayを用いて以下の検討を加えた。

（方　　法）

1．SPFC assay：末梢血から同種および自己赤血球を得，poly-L-lysine 処理マイクロプレートに赤血球を単層化した後エフェクター細胞をwellあたり約5千個入れ37℃，3時間静置する。位相差顕微鏡40倍にて溶血斑（プラーク）形成細胞，SPFCを数え10^6あたりのSPFCを算定する。この反応系にはいっさい血清，補体は加えず培養液としてHanks 液を用いた。2．同種皮膚移植：8－10週の雄ラットを用いた。Lewisをレシピエントとして，ドナーから3×3㎠大の皮膚片を前胸部に移植した。ドナーとしては組織適合性が異なり拒絶反応の強さの違う二種類の近交系ラットACI，F344を用いた。ACI-LewisとF344-Lewisのそれぞれの平均生着日数はMST:7.67±0.82days，MST:10.50±3.27daysであった。3．エフェクター細胞：単核球は比重遠心法により分離し，移植片浸潤細胞は酵素法により得た。単球は付着細胞とした。移植後，経時的にレシピエントからエフェクター細胞を得，ドナーと自己赤血球に対するSPFC陽性細胞を測定した。同時に抗赤血球抗体を凝集法にて求めた。4．SPFCによる溶血阻害試験：白血球接着分子とその因子に対するmAb，抗CR3（Complement Receptor 3）mAb，抗LFA－1 mAb，抗

ICAM－1 mAbをSPFC assayに添加し溶血斑の形成阻害を調べた。

（成　　績）

SPFCは非特異性を示し，同種移植後のSPFCの産生を各エフェクターについてみると脾細胞中には産生されず，PBMCの中の単球分画と移植皮膚片浸潤細胞中に認められる。拒絶反応の強さの異なるACI-Lewis，F344-Lewisの二つの組合せで，同種移植後の経時的なSPFC産生を浸潤細胞についてみると，いずれの組合せにおいて拒絶反応の発症と一致したSPFC産生のピークが観察された。ACI-Lewis間ではday 6がピークであり，F344-Lewis間ではday 6とday10に二相性のピークを示した。同系間移植ではday 6にSPFCの産生をわずかに見る程度であった。拒絶反応の弱いF 344 -Lewisの組合せでは浸潤細胞中のSPFC産生は拒絶反応の強いACI-Lewisの場合と比べて半分程度であり，SPFC産生のピークが二相性を示したのはday 6に3例中2例，day10に全例が拒絶されていたためである。

拒絶移植皮膚片から分離された浸潤細胞をエフェクターとした場合，in vitroにおけるSPFCの溶血は抗CR 3 mAbの添加により阻害された。すなわち，赤血球はCR 3のリガンドのうちのひとつであることから，SPFCは抗体や補体の関与なしに，あるいは抗体や補体の存在下での局所補体活性化とiC 3 b形成により，CR 3を介した貧食や溶血をきたすものと考えられる。

（総　　括）

SPFCは非特異的にCR 3を介して溶血を生じる単球エフェクターである。赤血球の型物質は血管内皮などに分布しCR 3のリガンドのひとつであることから，溶血活性をもつSPFCは血管内皮などの組織障害をもたらすエフェクターとなりうる。そしてSPFC産生は同種皮膚移植後に見られる拒絶反応の強さや拒絶反応の発症に一致した動きを示した。

以上より，SPFC単球は同種拒絶反応に関わるエフェクターであり拒絶反応の免疫学的指標になりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

ラット同種拒絶反応における単球マクロファージ系の関わりと，それによる組織障害の機序について，新しい単球マクロファージの検出系Spontaneus Plaque Forming Cell（SPFC）assayを用いて検討した。

ラット同種皮膚移植における単球マクロファージの関わりについて，同種皮膚移植後に移植皮膚片へ浸潤するSPFC数を浸潤細胞中10^6個あたりに換算して測定した。組織適合性が異なり拒絶反応の発症の強さの違うドナーとしてACIとF344を用い，レシピエントとしてLewisを用いた。ACI-Lewis，F344-Lewisのいずれにおいても拒絶反応の発症日（前者は，7.67±0.82日，後者は10.50±3.27日）に一致して，SPFC産生のピークが移植片浸潤細胞中に観察され，浸潤細胞中のSPFC数も拒絶反応の発症日の早いACI-Lewis間ではF344-Lewis間の約2倍でありSPFCは拒絶反応の強さに比例した。

非特異的な溶血活性を示すSPFCによる組織障害は，SPFCによる溶血が白血球接着分子CR 3（補体レセプター3）によるモノクロナール抗体によって阻害されることからCR 3を介し血管内皮上に分布する赤血球の型物質との反応により補体，抗体の関与なしで，もたらせることが示唆された。

以上，SPFC assay系をもちいて，単球マクロファージ系による拒絶反応の組織障害の機序と関わりを明らかにしたことは学位論文に値する。