

Title	Induction of unresponsiveness in rats after either intraportal injection of donor antigen or intravenous injection combined with splenectomy
Author(s)	永野, 浩昭
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38519">https://hdl.handle.net/11094/38519</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

氏名	ながのひろあき 永野浩昭
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第11176号
学位授与年月日	平成6年3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	<b>Induction of unresponsiveness in rats after either intraportal injection of donor antigen or intravenous injection combined with splenectomy</b> (ラットアロ抗原門脈内投与もしくは摘脾後静脈内投与による免疫不応答性の誘導)
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 白倉 良太

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

近年、移植成績は飛躍的に向上した。しかし現行の免疫抑制療法は非特異的に免疫反応を低下させるため、重篤な感染症や悪性腫瘍の発生などの副作用が生ずることも少なくない。臓器移植成績のより一層の向上を図るためには、これら生体の正常な反応を障害する非特異的な免疫抑制療法とは異なる新しい免疫抑制療法、特にドナー特異的な免疫抑制療法の開発が急務である。一方、門脈より直接抗原を投与することによりもたらされる免疫寛容については現在までに種々の報告があり、著者らもラットアロ抗原を門脈内投与後肝移植を行なうと移植肝が永久生着することを報告している。このドナー特異的な免疫寛容成立のメカニズムの詳細については未だ明らかではないが、投与抗原の肝内への集積が重要な因子の一つであると予想される。そこで本研究においては投与抗原の肝内集積に着目し、アロ抗原の摘脾後静脈内投与、門脈内直接投与および静脈内投与したラットにおいてそれぞれの免疫抑制効果を比較検討し、さらには投与した脾細胞が投与後一定の期間を経た後に宿主内に存在するか否か (micro-chimerism の成立の有無) についてDNAレベルでの解析を行った。

#### 【方法】

動物はレシピエントとしてBUF (RT1<sup>b</sup>) ラット、ドナーとしてACI (RT1<sup>a</sup>) ラットを用いた。投与抗原として脾細胞 ( $5 \times 10^7$ ) を用い、門脈内投与は腸間膜静脈より、静脈内投与は陰茎背静脈より行った。実験群として門脈内投与群、静脈内投与群、摘脾後静脈内投与群と、それら3群に加え摘脾単独群、対照群の5群を作成した。まず脾細胞投与後の肝臓への集積を調べるために、<sup>51</sup>Crラベル化脾細胞を用い投与後の肝臓への集積率を検討した。免疫学的なモニタリングとして、上記の前処置後10日目の遅延型過敏反応 (delayed type hypersensitivity, DTH) と経時的な抗体価 (complement-dependent cytotoxicity, CDC) を測定した。また in vivo での免疫抑制効果を調べるため前処置後10日目に異所性心移植、同所性肝移植を各群において施行しその生着期間について検討した。さらに、門脈内投与群、静脈内投与群、摘脾後静脈内投与群の3群については投与後14日目に犠死させ各臓器 (肝、脾、胸腺、小腸、リンパ節) よりDNAを抽出しPCR法を用いrestriction fragment length polymorphism (RFLP) 解析にて、micro-chimerism 成立についての検討を行った。

#### 【結果】

1) 投与した脾細胞の肝内集積率 (mean ± SD, %) は、門脈内投与群  $25.0 \pm 3.2$ 、静脈内投与群  $17.8 \pm 2.6$ 、摘脾後静脈

内投与群 $28.8 \pm 3.7$ で、門脈内投与もしくは摘脾後静脈内投与は、静脈内投与よりも肝内集積率が有意 ( $P < 0.05$ ) に高いことが示された。

2) 遅延型過敏反応 (mean  $\pm$  SD,  $\times 10^{-2}$  mm) は、門脈内投与群 $20.5 \pm 4.2$ 、静脈内投与群 $35.4 \pm 8.0$ 、摘脾後静脈内投与群 $19.2 \pm 3.5$ 、摘脾単独群 $41.2 \pm 2.9$ 、対照群 $50.1 \pm 5.5$ で、門脈内投与、摘脾後静脈内投与において有意に ( $P < 0.01$ ) 抑制された。

3) 抗体価 (mean  $\pm$  SD,  $\log_2$ ) については、静脈内投与後は、7日目、10日目に $7.3 \pm 1.2$ 、 $7.5 \pm 0.8$ 、まで上昇したが、門脈内投与後、摘脾後静脈内投与後はそれぞれ $3.2 \pm 0.7$ 、 $3.0 \pm 0.9$ と、 $1.3 \pm 0.5$ 、 $1.3 \pm 0.5$ で、両群においてともに抗体の産生は有意に ( $p < 0.05$ ) 抑制されていた。さらに前処置後10日目に、静脈内に脾細胞を追加投与しその後の抗体価についても検討したが、門脈内投与、摘脾後静脈内投与の両群において、抗体産生は有意に ( $P < 0.05$ ) 抑制されていた。また摘脾単独群においては、有意な抗体産生抑制は認められなかった。

4) 異所性心移植の生着日数 (各群 $n=5$ ) は、門脈内投与群 $13.8 \pm 2.1$ 、静脈内投与群 $10.0 \pm 2.9$ 、摘脾後静脈内投与群 $14.6 \pm 1.9$ 、摘脾単独群 $9.2 \pm 1.2$ 、対照群 $9.3 \pm 0.5$ で、門脈内投与、摘脾後静脈内投与群は、他の3群に比し有意な生着延長効果 ( $P < 0.05$ ) を示した。

5) 肝移植の生着日数 (各群 $n=5$ ) は、静脈内投与群 (10, 10, 10時間, 4, 20日)、摘脾単独群 (10, 10, 14, 14, 22日)、対照群 (9, 9, 9, 10, 11日) であったが、門脈内投与、摘脾後静脈内投与群では全例が45日以上長期生着を示した。

6) アロ脾細胞投与後14日目のRFLP解析では、門脈内投与後の脾臓、摘脾後静脈内投与後の小腸においてドナー脾細胞のDNAは存在するが、静脈内投与後には存在しなかった。

#### 【総括】

1) 投与したドナー脾細胞は摘脾後静脈内投与群と門脈的投与群において、静脈内投与群に比し肝内に有意に多く集積し、これら2群の免疫反応の検討では、類似の免疫抑制効果を認めた。

2) RFLP解析を行ったところ、門脈内投与後14日目の脾臓に、摘脾後静脈内投与後14日目の小腸にmicro-chimerismが存在することが明らかになった。

以上の結果よりドナー脾細胞門脈内投与による免疫抑制効果成立の機序については、投与した抗原の初期の肝臓内への集積と、一定の期間を経た後の宿主内での存在 (micro-chimerismの成立) が重要な因子であると思われる。

### 論文新津の結果の要旨

本研究は、ドナー脾細胞をレシピエントの門脈内に投与した後に生ずる免疫抑制効果の機序解明を目的とし、門脈内投与群と摘脾後静脈内投与群について投与アロ抗原の肝臓内への初期集積性と、投与細胞のmicro-chimerism成立の有無について、比較検討したものである。その結果、両群とも、静脈内投与に比し、肝臓への抗原の高い集積率と有意の免疫抑制効果を示し、さらにmicro-chimerismの成立が明らかになった。このことにより、門脈内アロ抗原投与後の免疫抑制効果については、投与した抗原の初期の肝臓内への集積と、それに続くmicro-chimerism成立の重要性が示された。

これらの知見は、臓器移植の領域におけるドナー特異的免疫抑制法の開発に資するところが大きく、学位に値するものと考えられる。