Osaka University Knowledge Archive

Title	Analysis of rejection mechanism in the rat to mouse cardiac xenotransplantation : Role and characteristics of anti-endothelial cell antibodies
Author(s)	松宮, 護郎
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38940
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名	松宮護郎（まつみや ごろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　11305　号
学位授与年月日	平成6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	**Analysis of rejection mechanism in the rat to mouse cardiac xenotransplantation:Role and characteristics of anti-endothelial cell antibodies** **（ラット，マウス間異種心移植拒絶反応機構の解析－抗血管内皮抗体の関与について－）**
論文審査委員	（主査） 教　授　松田　暉 （副査） 教　授　濱岡　利之　　教　授　森　武貞

論文内容の要旨

【はじめに】

心臓や肝臓を含めて臓器移植は，日常的治療法となったが，ドナー不足が深刻な問題となっている。これを解決する一方法として異種移植に強い関心が持たれている。異種移植は遠い種間の discordant xenograft と近い種間の concordant xenogrft に分けられる。concordant xenogrft では，拒絶される時期からみて，allogaft と同様の拒絶反応が惹起されると考えられていたが，最近 concordant xenograft の一つであるハムスター，ラット間異種心移植モデルにおいて，移植後産生される抗体が拒絶反応の主要な effector あることが明らかにされた。しかし，これが concordant xenograft に共通の拒絶反応機構であるか否か，またこの移植後産生される異種抗体がいかなる抗原を認識し，また T 細胞応答がこれにいかに関わるかなどは明かにされていない。

【目的】

そこで，この拒絶反応機構を解明するため，免疫学的解析の可能なラット，マウス間異種心移植モデルを用いて，concordant cardiac xenograft における異種抗体の特徴，役割とその産生機構について解析した。

【対象ならびに方法】

10－15日令の雄性 Lewis ラット心を8－10週令の雄性 C3H／HeN マウス腹腔内に異所性に移植し，拒絶成立時の移植心を組織学的に検討した。また，拒絶時の血清を移植直後のレシピエントに移入することにより拒絶反応を惹起しうるか否かを検討した。Lewis ラット冠血管内皮細胞（EC）を分離培養し，これと拒絶時誘導される血清中の Immunoglobulin（Ig）との反応を flow cytometry 法により解析した。MHC 抗原が異種抗体の標的抗原となっているか否かを検討するため，EC 上の MHC 抗原が拒絶時血清によりブロックし得るか，また，ラット各種細胞の MHC 抗原の発現と，拒絶時血清との反応の相関について検討した。さらに T 細胞サブセット，L3T4 及び Lyt2.1 に対する抗体の生体内投与が生着延長，抗体産生抑制に与える影響についても解析した。

【成績】

(1)拒絶心組織所見：移植心はいずれも5～6日で拒絶されたが，細胞浸潤はほとんど認められず，心内膜下を中心とする広範な出血壊死像を呈した。免疫組織染色ではグラフト冠血管内皮上に IgM，IgG，C3 の沈着を認めた。

(2)血清移入実験：拒絶時血清を移植直後のレシピシエントに0.2，0.4，0.6ml 移入すると，おのおの175分，152分，120分で移植心は移入血清容量依存性に超急性に拒絶された。

(3)レシピエント血清とドナー冠血管内皮細胞（EC）との反応：移植前血清中にはECに結合するIgを認めなかったが，拒絶時血清中にはECに結合するIgを認めた。このECに結合するIgのサブクラスはIgM，IgG2aが主体であった。

(4)異種抗体標的抗原の解析：ECをIFN-γで刺激するとMHC class Ⅰ，Ⅱともに発現が増強するが，これに結合する拒絶時血清中Igの反応も増強した。ECと拒絶時血清（2倍希釈）とをあらかじめincubateすることにより，EC上のclass Ⅰ抗原（OX-18により染色）は軽度ブロックされたが，class Ⅱ抗原（OX-6により染色）はほとんどブロックされなかった。class Ⅰ，Ⅱともに発現する細胞を含む脾細胞と，class Ⅱを発現しない脾T細胞に対する拒絶時血清中Igの反応に差を認めなかった。さらにドナーとMHCの全く異なるBuffaloラットの脾細胞とも，Lewisラット脾細胞と同程度に反応した。

(5)抗L3T4，Lyt2.1 mAbの投与効果について：抗体非投与群では平均生着日数は5.6日であった。抗Lyt2.1抗体投与群では抗EC抗体産生は抑制されず，平均生着日数は6.0日で生着延長は得られなかった。しかし，抗L3T4抗体投与群では抗EC抗体産生は著明に抑制され，生着日数は平均29.5日に延長した。さらに胸腺摘除マウスに抗L3T4抗体を投与すると，グラフトは100日以上にわたり長期生着した。

【総括】

Lewisラット心をC3H／HeNマウスに移植するconcordant cardiac xenograft実験を行い以下の結果を得た。1）拒絶心の組織所見，血清移入実験より液性因子が拒絶反応の主体であることが示された。2）免疫組織染色から，グラフトECはこの液性因子のfirst targetであり，抗EC抗体が拒絶反応の主要なeffectorであることが示された。この抗体はIgM，IgG2aが主要なサブクラスであった。3）この抗体の標的抗原の一部はMHCであるが，そのうちclass Ⅱの関与は低く，non-MHC抗原も主要な標的抗原であることが示唆された。4）この抗体の産生にはL3T4陽性T細胞の存在が必須であることが明かとなった。

論文審査の結果の要旨

異種移植においては超急性および急性の拒絶反応が問題となるが，近い種間のconcordant xenograftにおける急性拒絶反応では，allograftと同様の拒絶反応機構が働くと考えられてきた。しかし，concordant xenograftの一つであるハムスター，ラット間異種心移植モデルにおいては，移植後産生される抗体が拒絶反応の主要なeffectorであることが近年明らかにされてきている。

そこで本研究ではconcordant xenograftにおける拒絶反応機構を解明するため，10－15日令の雄性Lewisラット心を8－10週令の雄性C3H／HeNマウス腹腔内に異所性に移植する異種心移植モデルを用いて，異種抗体の特徴，役割とその産生機構について解析した。その結果，拒絶心の組織所見および血清移入実験より本モデルにおける拒絶反応は液性因子により惹起され，免疫組織染色からこの中でも特に抗血管内皮抗体が重要なeffectorであることを証明した。また，この抗体は主にIgM，IgG2aサブクラスであり，標的抗原としてドナー各種細胞に共通に発現されるnon-MHC抗原の関与が重要であること。さらにL3T4陽性細胞の除去によりこの産生が抑えられ，移植心の生着が延長することを示した。

これらの知見は，異種移植の拒絶反応機序の解明，及びその制御法を開発するうえで有用であり，学位論文に値すると考える。