OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The rejection mechanism of rat pancreatico-duodenal allografts with a class I MHC disparity
Author(s)	山本, 重孝
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39260
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	山本重孝（やまもとしげたか）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 11496 号
学位授与年月日	平成6年6月30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	The rejection mechanism of rat pancreatico－duodenal allografts with a class I MHC disparity （膵移植における急性拒絶反応の免疫学的特異性に関する実験的研究 －クラスI MHC 抗原相違ラット膵移植モデルを用いた解析－）
論文審査委員	（主査） 教授 松田 暉 （副査） 教授 濱岡 利三　教授 白倉 良太

論文内容の要旨

〔背景ならびに目的〕

膵単独移植の最近の臨床成績は，免疫抑制療法の進歩にもかかわらず1年生着率で約50％と不良であり，心，肝，腎などの他臓器に比し膵は拒絶されやすい臓器と考えてられている。膵が拒絶されやすい原因の一つとして，移植膵にはレシピエントの拒絶反応を惹起させる強い免疫原性があるのではないかと推察できるが，移植膵が急性拒絶反応において惹起する免疫応答の特異性については未だ明らかにされていない。最近我々は，クラスI MHC 抗原のみ異なる組み合せの中で，心，肝，腎は生着すると報告されている PVG－R1 ラットから PVG ラットへの組合せ，いわゆる“low responder”の系において，膵は拒絶されるという事実を確認した。そこで本研究は，この組合せにおいて移植膵が拒絶される過程でレシピエントに誘導される免疫応答を細胞性ならびに液性免疫の面より，拒絶されない移植心に対する免疫応答と対比することにより，移植膵の急性拒絶反応における免疫学的特異性を明らかにすることを目的とした。

〔対象ならびに方法〕

移植実験には，ドナーに PVG. R1ラット（RT1. $A^aB^aD^aC^a$），レシピエントに PVG ラット（RT1. $A^cB^cD^cC^c$）を用い，Sun Lee 法による膵十二指腸移植モデルと Ono－Lindsey 法による腹部異所性心移植モデルを用いた。前者のレシピエントは移植前にストレプトゾトシンを投与することにより糖尿とし，膵移植後血糖値が200mg／dl以上に再上昇した日を拒絶日と判定した。移植膵および十二指腸は移植膵が拒絶された時点で，移植心は移植膵の拒絶日と同日に組織学的検討を行った。細胞性免疫応答には，レシピエント浮遊脾細胞を rabbit 抗 rat IgG 抗体で coating した Degalanbeads column に通過させて分離した Ig^- 細胞を T細胞として用いた。さらに $CD4^+$ T細胞および $CD8^+$ T細胞は Magnetic beads を用いて分離した。この分離細胞を用いてリンパ球混合培養試験，さらに，限界希釈法を用いたドナー抗原に特異的な IL－2産生ヘルパー T前駆細胞頻度f（Thp）ならびに細胞傷害性T前駆細胞頻度f（Tcp）を測定した。液性免疫応答としてレシピエントの血清を用い，ドナー由来の標的細胞に対する補体依存性細胞傷害活性を ^{51}Cr release 法にて測定した。抗体のサブクラスは flow cytometry 法にて測定した。さらに，これらの抗体の結合部位がドナーのクラスI MHC 抗原であるか否か検討するため，ラットクラスI MHC 抗原を認識するモノクローナ

ル抗体 OX18を用いて，レシピエント血清によるOX18の結合阻害を flow cytometry 法にて測定した。

〔成　績〕

(1) 移植成績ならびに組織所見：移植膵は平均21.4 ± 1.8 日（n = 5）で拒否されたが，移植心は100 日以上生着した（n = 5）。膵拒絶時には，移植膵の内外分泌組織は完全に線維組織に置き換わっていた。移植心の組織構築は保たれていた。

(2) リンパ球混合培養試験：膵拒絶後のレシピエント脾T細胞，主として $CD4^+$ T細胞，がドナー抗原に対し増殖応答を示したが，心移植後の脾T細胞は増殖応答を示さなかった。

(3) 限界希釈法：膵拒絶後，f（Thp）は1／（5, 030 ± 3, 396）（n = 4）であり，心移植後の1／（17, 326 ± 6, 822）（n = 4）および移植前の1／（40, 609 ± 15, 441）（n = 5）に比して有意にクローンサイズの拡大を認めた（各々 $p < 0.05$ および $p < 0.01$）。一方，膵拒絶後，f（Tcp）は1／（1, 848 ± 330）（n = 4）であり，心移植後の1／（2, 215 ± 2, 131）（n = 4）および移植前の1／（2, 476 ± 585）（n = 5）に比し有意な拡大を認めなかった。

(4) 補体依存性細胞傷害活性：膵拒絶後，心移植後ならびに移植前血清のドナー由来標的細胞に対する%lysis は，血清希釈率（1 : 4, 1 : 8）において各々（51.7 ± 20.2%, 34.9 ± 19.8%），（2.5 ± 3.8%, 3.4 ± 4.9%），（1.0 ± 1.1%, 2.1 ± 2.3%）であり，膵拒絶後にのみ細胞傷害性抗体が検出された。

(5) flow cytometry 法：心移植後血清中にはドナー由来の標的細胞に結合する抗体の存在を認めなかったが，膵移植後の血清中には標的細胞に結合する抗体を認めた。

(6) ドナークラスI MHC 抗原に対する blocking flow cytometry 法：膵拒絶後のレシピエント血清で予め incubate した標的細胞には，移植前血清で incubate した標的細胞に比して，抗クラスI MHC 抗体（OX18）の結合が抑制された。

〔総　括〕

(1) クラスI MHC 抗原のみ異なる PVG.R1ラットからPVG ラットへの組合せにおいて，移植膵の急性拒絶反応における免疫応答を移植心に対する免疫応答との比較により検討した。

(2) 移植心は100 日以上生着したが，移植膵は平均21.4 ± 1.8 日で拒絶された。

(3) 膵移植後のT細胞主として $CD4^+$ T細胞は，心移植後ならびに移植前に比しドナー抗原に対して有意に増殖応答を示した。

(4) 膵移植後の IL－2産生ヘルパーT前駆細胞クローンは心移植後ならびに移植前に比し有意に拡大したが，細胞傷害性T前駆細胞クローンは拡大しなかった。

(5) 膵移植後の血清中には，ドナーのクラス I MHC 抗原に結合し細胞傷害性に働く抗体が産生され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，心肝腎は拒絶されないが膵は拒絶されるというクラス I MHC 抗原のみが異なるラットの系を用いて，膵のみが拒絶されるレシピエントの免疫応答の特異性を細胞性ならびに液性免疫の面より検討したものである。

特に細胞性免疫応答の検討としての IL－2産生ヘルパー T前駆細胞頻度ならびに細胞傷害性 T前駆細胞頻度はラットの系で新しく確立した手法を用いていること，さらに液性免疫応答として膵移植ラットの血清中抗体の働きを補体依存性細胞傷害活性で測定し，その抗体がドナーのクラスI MHC 抗原に向かうことをブロッキングを用いたフローサイトメトリーにて明らかにしていることが特記すべき点である。本研究は今後の膵移植における免疫寛容の誘導ならびに臨床の移植成績の向上につながる価値ある研究であり，学位に値するものと認める。