The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Tolerance induction of allo-class I H-2 antigen-reactive Lyt-2+ helper T cell and prolonged survival of the corresponding class I H-2 diparate skin graft
Author(s)	吾妻, 達生
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39516
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

【81】

氏　　名	吾　妻　達　生（あづま たつお）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　12570　号
学位授与年月日	平成8年3月25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	Tolerance induction of allo－class Ⅰ H－2 antigen－reactive Lyt－2^+ helper T cell and prolonged survival of the corresponding class Ⅰ H－2 diparate skin graft （アロ　クラスⅠ H－2抗原反応性 Lyt－2^+（CD8^+）T細胞に対する免疫寛容誘導と皮膚移植片の生着延長効果）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　岡田　正 （副査） 教　授　濵岡　利之　　教　授　門田　守人

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

アロ抗原に対する特異的免疫寛容の誘導は臓器移植において拒絶反応を抑制する理想的な方法である。アロ抗原を人為的に静脈内移入することによって，免疫抑制が誘導される場合と逆に抗原に感作される場合とがある。アロ抗原の静脈内移入によりT細胞サブセットがどのような影響を受けるかを解析することは，抗アロ免疫応答を研究する上で重要である。

本研究では，C57BL／6（B6）マウス及びそのクラスⅠミュータント・マウスであるB6－C－H－2^{bm1}（bm1）の組み合わせの系で (1)アロ bm1 脾細胞の静脈内移入がクラスⅠ反応性 CD8^+T 細胞におよぼす影響 (2)アロ bm1 脾細胞の静脈内移入が実際の皮膚移植において移植片の生着延長に及ぼす効果 (3)皮膚移植後の CD8^+T 細胞動態について検討した。

【方法ならびに成績】

C57BL／6（B6）マウス及びそのクラスⅠミュータント・マウスである bm1 の組み合わせの系で，このB6マウスにアロ bm1 脾細胞10^7 個を静脈内投与し，7日後に採取したリンパ節細胞を用い以下の検討を行った。

(1)アロ bm1 脾細胞の静脈内移入が抗体 bm1 CD8^+T 前駆細胞にいかなる影響をおよぼすかを限界希釈法により解析し，また抗 bm1 CD8^+T 細胞応答（MLR，IL－2産生，CTL活性）について検討した。

アロ bm1 脾細胞10^7 個を静脈内投与した前感作マウスの増殖性T前駆細胞，IL－2産生前駆細胞の頻度は，ともに検出感度以下（$1／4\times10^5$）で検出されなかった。また CD8^+T 細胞の増殖応答（MLR，IL－2産生）は抗原特異的に抑制されていた。一方CTL前駆細胞は正常マウスに比べ若干の頻度の低下はあるが有意に bm1 反応性CTL前駆細胞が検出され，CTL活性も誘導された。

このことからアロ bm1 脾細胞の静脈内移入により CD8^+T 細胞の増殖応答が抗原特異的に抑制され，この免疫寛容は増殖性およびIL－2産生T細胞クローンのほぼ完全な除去あるいは機能不全によるものであり，一方CTL応答は静脈内前感作のみでは強い抑制を受けないことが明らかになった。

更に，前感作マウスでは CD8^+ ヘルパーT細胞機能が抑制され，アロ bm1 抗原刺激に対してIL－2産生が検出されないにも拘わらずCTL活性が誘導されるが，このCTL活性はIL－2と無関係に誘導されているのかどうかについて検討した。IL－2産生を阻害するサイクロスポリン（CsA）存在下で正常マウスおよび寛容マウスのC

ＴＬ活性を測定すると，CsA 濃度依存性にＣＴＬ活性は低下する。しかし CsA 存在下に，同時に rIL－２を添加するとＣＴＬ活性は完全に正常マウス・レベルにまで回復した。すなわち寛容マウスでのＣＴＬ誘導には培養上清中に測定感度以下の微量のＩＬ－２が産生され，ごく微量のＩＬ－２がＣＴＬ誘導に関与していることが示唆された。

(2)アロ bm１脾細胞の静脈内移入による抗 bm１ CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞機能の選択的抑制が，実際の皮膚移植片の生着延長に有効であるかどうかを検討した。

正常Ｂ６マウスおよびアロ bm１脾細胞10^{7}個を静脈内投与後７日目の前感作マウスに bm１マウスの皮膚を移植すると，静脈内前感作マウスでは移植片の著しい生着延長がもたらされ，平均生着期間は無処理対照群の11.8日の約３倍34.9日に延長した。

アロ bm１脾細胞の静脈内移入による CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞の免疫寛容誘導が実際の皮膚移植片の生着延長に有効であることが明らかになった。

(3)正常マウスおよびアロ bm１脾細胞の静脈内移入後７日目の前感作マウスに皮膚移植し，移植後経時的に宿主マウスのリンパ節細胞を採取し，個々のマウスの bm１抗原に対するＭＬＲ，ＩＬ－２産生及びＣＴＬ活性を検討した。

正常マウスに移植した群では移植後常にＭＬＲ，ＩＬ－２産生及びＣＴＬ活性は正常マウスと同程度に認められた。前感作マウスに移植した群では，移植片が生着している間はＭＬＲおよびＩＬ－２産生は引き続きほぼ完全に抑制されている。この抑制は移植片の拒絶とともに回復し，移植片拒絶マウスでは正常マウスと同程度にまで回復している。一方前感作処置のみでは強い抑制を受けなかったＣＴＬ活性は，移植片が生着しヘルパーＴ細胞機能が抑制されている前感作マウスでは２次的にほぼ完全に抑制され，移植片拒絶とともに正常レベルに回復することが明らかになった。

【総括】

ＭＨＣクラスＩ抗原の異なるアロ bm１脾細胞の静脈内投与によって，クローンの除去あるいは機能不全により CD８$^{+}$Ｔ細胞の増殖応答およびＩＬ－２産生は抗原特異的に抑制され，一方ＣＴＬ応答は影響を受けにくいことが明らかになった。また CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞の免疫寛容誘導は実際の皮膚移植において，移植片の生着延長に有効であった。さらに移植片が生着している寛容マウスでは CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞機能の抑制が継続し，その免疫寛容に伴って前感作処置のみでは抑制されないＣＴＬ活性のほぼ完全な抑制が誘導されることが明らかになった。

以上，C57BL／６（Ｂ６）マウス及びそのクラスＩミュータント・マウスである bm１の組み合わせの系では，CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞機能の免疫寛容誘導が皮膚移植片の生着延長にもっとも重要であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は，C57BL／６（Ｂ６）マウスおよびそのクラスＩミュータント・マウスである bm１の組み合わせで，アロ bm１脾細胞をＢ６マウスに静脈内投与（静脈内前感作）することによって，(1)アロクラスＩ反応性 CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞（増殖型およびＩＬ－２産生Ｔ細胞）機能は，クローンの除去あるいは機能不全により抗原特異的に抑制される (2) CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞機能の免疫寛容誘導は実際の皮膚移植において，皮膚移植片の著しい生着延長効果をもたらす (3)移植片が生着しているマウスでは CD８$^{+}$Ｔ細胞機能の抑制が継続し，前感作処置のみでは抑制されなかったＣＴＬ活性が抑制されることを明らかにし，これより CD８$^{+}$ヘルパーＴ細胞機能の免疫寛容誘導が移植片生着に一義的に重要であることを明らかにした。

本研究が抗クラスＩアロ免疫応答において CD８$^{+}$Ｔ細胞の機能を初めて明らかにしたことは高く評価され，臓器移植の臨床応用において拒絶反応の制御に重要な意義をもつものである。この意味においてこの論文は学位に値するものと認める。