

Title	Restoration of immune abnormalities in diabetic BB rats after pancreas transplantation I. Macrochimerism of donor-graft derived RT6+T cells responsible for the restoration of immune responsiveness and the suppression of autoimmune reaction
Author(s)	打越, 史洋
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39891">https://hdl.handle.net/11094/39891</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">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="#">ご参照ください</a> 。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	うちこしあみひる 打越史洋
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第12414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1項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Restoration of immune abnormalities in diabetic BB rats after pancreas transplantation I. Macrochimerism of donor-graft derived RT6 <sup>+</sup> T cells responsible for the restoration of immune responsiveness and the suppression of autoimmune reaction (自然発症糖尿病BBラットにおける膵移植後の免疫異常の回復—RT6 <sup>+</sup> T細胞によるマクロキメリズムの関与—)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉  (副査) 教授 白倉 良太 教授 門田 守人

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

インスリン依存型糖尿病(IDDM)は、膵ランゲルハンス島(膵島)β細胞に対する自己免疫機序にて発症する疾患であると考えられている。その発症機序については、遺伝的素因や環境因子の他に、種々の免疫系の異常の関与が報告されている。IDDMの発症予防として、近年、インスリンや免疫抑制剤等の予防的投与が試みられ、その発症抑制効果が報告されているが、この効果が長期的に維持されるか、あるいは、種々の免疫異常が改善されるのかは明らかでない。一方、IDDMに対する膵移植においては、最近の免疫抑制療法の進歩により移植成績の向上が認められる。しかしながら膵移植では、拒絶反応のみならず移植膵に対する自己免疫反応の解析・制御も重要であると考えられる。BBラットはヒトIDDMの動物モデルであり、自然発症糖尿病BBラット(Diabetes Prone BBラット; DPラット)と糖尿病発症抵抗性BBラット(Diabetes Resistant BBラット; DRラット)の2つのsublineが存在する。このうちDPラットは膵β細胞に対する自己免疫反応の他に、T細胞数減少、mitogenやアロ抗原刺激に対する細胞性免疫応答の低下等の免疫異常を有している。これらの免疫異常は、免疫調節細胞と考えられているRT6アロ抗原陽性(RT6<sup>+</sup>)T細胞がDPラットにおいて欠損していることが原因と考えられている。本研究では、このDPラットを用い、拒絶反応は起こらないが、IDDMが再発する組み合わせで膵移植を行い、膵移植後の細胞性免疫応答の変化、移植膵に対する自己免疫反応の解析を行った。

#### 【方法】

膵移植はLeeの方法に準じて腹部異所性全膵十二指腸移植を行った。実験群は、A群:無処置Wistar Furthラット(RT1<sup>u</sup>, RT6.2<sup>+</sup>)、B群:IDDM発症後インスリン治療のみを行ったDPラット(RT1<sup>u</sup>, RT6.1<sup>+</sup>)、C群:IDDM発症前にFK506を投与し、その発症を予防したDPラット、D群:IDDM発症前に抗接着分子抗体であるICAM-1抗体(1A29)と抗LFA-1抗体(WT.1)投与を行い、その発症を予防したDPラット、E群:IDDM発症後に、Wistar Furthラットの膵を移植したDPラット、F群:E群のDPラットに、1A29/WT.1を移植1週間後より計6回(1mg/kg, 2回/週)腹腔内投与したラット、である。移植後経時的に血糖値を測定し、300mg/dl以上の再上昇時に移植膵を組織学的に検討した。細胞性免疫応答の指標として、脾T細胞数、Concanavalin A(Con A)に対する増殖応答、fully allogeneicなBUF抗原(RT1<sup>u</sup>)に対するリンパ球混合培養反応(MLR)・限界稀釈法によるIL-2産生ヘルパーTおよび細胞傷害性T前駆細胞頻度を検討した。RT6<sup>+</sup>細

胞は抗 RT6.1抗体 (DS4.23), 抗 RT6.2抗体 (6A5) を用いて FACS にて検出した。膵島に対する自己免疫反応は, Wistar Furth ラットの膵島細胞を target とし, 脾 T 細胞を effector とした<sup>51</sup>Cr release assay にて評価した。また, DR ラットの RT6<sup>+</sup>T 細胞の除去は DS4.23 抗体の腹腔内投与にて行った。

#### 【成績】

- (1) 移植成績: E 群では移植後平均 65.3 日で血糖値の再上昇を認め, 組織学的に全例移植膵の膵島に細胞浸潤 (膵島炎) を認めたが, F 群では全例平均 108 日以上生着し, 組織学的にも移植膵は正常の構築を示した。
- (2) 細胞性免疫応答: 脾 T 細胞数は, F 群において B 群に比べ有意に増加していたが, C, D, E 群では増加を認めなかった。Con A 応答及び M L R, ヘルパー T 及び細胞傷害性 T 前駆細胞頻度よりみたアロ抗原反応性は, それぞれ F 群において B 群に比べ有意に改善していたが, C, D, E 群では改善を認めなかった。また, RT6<sup>+</sup>T 細胞の除去を行った DR ラットでは, Con A 応答, M L R ともに無処置 DR ラットに比べ有意に低下していた。
- (3) 脾 T 細胞中の RT6<sup>+</sup>T 細胞: F 群においては, ドナー由来の RT6.2<sup>+</sup>T 細胞 (脾 T 細胞の中平均 34.3%) が出現していたが, C, D, E 群では, RT6<sup>+</sup>T 細胞は認められなかった。F 群の DP ラットに出現した RT6<sup>+</sup>T 細胞は, CD4<sup>+</sup>T 細胞優位であった。
- (4) 膵島細胞傷害性試験: B, D 群の DP ラット由来の脾 T 細胞及び, DS4.23 抗体投与により RT6<sup>+</sup>T 細胞を除去した DR ラット由来の脾 T 細胞は著明な膵島細胞傷害性を示した。DP ラット脾 T 細胞の膵島傷害性は, DR ラットの T 細胞を加えることにより抑制された。膵移植ラットでの膵島細胞傷害性は, E 群では著明に認められたが, F 群においては DR ラットと同程度であった。

【総括】 Wistar Furth ラットをドナー, I D D M を発症した DP ラットをレシピエントとした膵移植を行い, 以下の結果を得た。

- (1) 移植後 1 A29/W T. 1 抗体投与により, 移植膵における I D D M 再発が予防された。
- (2) 抗体投与により移植膵が生着した DP ラットにおいては, 脾 T 細胞数の増加が認められ, さらにドナー由来の RT6<sup>+</sup>T 細胞によるマクロキメリズムが成立していた。
- (3) 移植膵が生着した DP ラットにおいては, 細胞性免疫応答の回復, 膵島に対する細胞傷害性の抑制が認められたが, 移植膵に I D D M 再発を来した DP ラット及び内科的治療にて I D D M 発症を予防した DP ラットにおいては, かかる所見を認めなかった。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は, インスリン依存型糖尿病 (I D D M) 患者に対する膵移植の移植膵に再発する自己免疫機序について, I D D M の動物モデルである Diabetes Prone (D P) - B B ラットを用いて解析した基礎的研究である。組織適合性の一致した Wistar Furth ラットから DP ラットへの膵移植モデルについて, 移植後のレシピエント DP ラットの細胞性免疫ならびに自己免疫応答の変化を, 内科的治療 (免疫抑制療法) にて I D D M 発症を予防した DP ラットと比較検討した。その結果, 移植後に抗 I C A M - 1 抗体及び抗 L F A - 1 抗体を投与した場合, 移植膵の I D D M 再発が抑制され, 膵は生着した。さらに, 移植膵が生着した DP ラットにおいては, 本来 DP ラットが有するリンパ球の減少ならびに細胞性免疫応答の異常が改善されたが, かかる所見は無処置膵移植ラットならびに内科的治療にて I D D M 発症を予防した DP ラットにおいては認められなかった。また, 移植膵が生着した DP ラットにおけるリンパ球数の増加は, ドナー由来の RT6 アロ抗原陽性 T 細胞がレシピエントに出現したためであることが明らかとなった。すなわち, 膵が生着した DP ラットにおける免疫異常の回復は, 免疫調節細胞である RT6 アロ抗原陽性 T 細胞によるマクロキメリズムが膵移植により成立したためであると考えられた。

以上の結果は, I D D M に対する膵移植によって, 内科的治療では得られないレシピエントの自己免疫を含めた免疫異常の回復の可能性を示したものと考えられ, I D D M 治療の研究における新しい知見であり, 本研究は学位に値するものと考えられる。