



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">大阪大学の博士論文について</a>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	打 越 史 洋
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 4 1 4 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. Macrophimerism of donor-graft derived RT 6 <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ラットにおける脾移植後の免疫異常の回復—RT 6 <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 噴
	(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、脾ランゲルハンス島（脾島） $\beta$ 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に対する脾移植においては、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。しかしながら脾移植では、拒絶反応のみならず移植脾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ラットは脾 $\beta$ 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RT 6アロ抗原陽性(RT 6<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脾移植を行い、脾移植後の細胞性免疫応答の変化、移植脾に対する自己免疫反応の解析を行った。

#### 【方法】

脾移植はLeeの方法に準じて腹部異所性全脾十二指腸移植を行った。実験群は、A群：無処置Wistar Furthラット(RT 1<sup>+</sup>, RT 6.2<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(RT 1<sup>+</sup>, RT 6.1<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ラットの脾を移植した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脾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(RT 1<sup>+</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。RT 6<sup>+</sup>細

胞は抗 RT6.1抗体 (DS4.23), 抗 RT6.2抗体 (6 A 5) を用いて FACS にて検出した。脾島に対する自己免疫反応は, Wistar Furth ラットの脾島細胞を 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 RT 6<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脾の脾島に細胞浸潤(脾島炎)を認めたが, F群では全例平均108日以上生着し, 組織学的にも移植脾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つた。Con A 応答及びMLR, 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つた。また, RT 6<sup>+</sup>T 細胞の除去を行つたDRラットでは, Con A 応答, MLR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RT 6<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, RT 6<sup>+</sup>T 細胞は認められなかつた。F群のDPラットに出現したRT 6<sup>+</sup>T 細胞は, CD 4<sup>+</sup>T 細胞優位であった。
- (4)脾島細胞傷害性試験：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 RT 6<sup>+</sup>T 細胞を除去したDRラット由来の脾T細胞は著明な脾島細胞傷害性を示した。DPラット脾T細胞の脾島傷害性は, DRラットのT細胞を加えることにより抑制された。脾移植ラットでの脾島細胞傷害性は, 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, IDDMを発症したDPラットをレシピエントとした脾移植を行い, 以下の結果を得た。

- (1)移植後1A29/WT. 1抗体投与により, 移植脾におけるIDDM再発が予防された。
- (2)抗体投与により移植脾が生着した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RT 6<sup>+</sup>T 細胞によるマクロキメリズムが成立していた。
- (3)移植脾が生着したDPラットにおいては, 細胞性免疫応答の回復, 脾島に対する細胞傷害性の抑制が認められたが, 移植脾にIDDM再発を来たしたDPラット及び内科的治療にてIDDM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つた。

#### 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(IDDM)患者に対する脾移植の移植脾に再発する自己免疫機序について, IDDMの動物モデルである Diabetes Prone(DP) - BB 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 ラットへの脾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 IDDM 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 ICAM-1 抗体及び抗 LFA-1 抗体を投与した場合, 移植脾の IDDM 再発が抑制され, 脾は生着した。さらに, 移植脾が生着した 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脾移植ラットならびに内科的治療にて IDDM 発症を予防した DP ラットにおいては認められなかつた。また, 移植脾が生着した DP ラットにおけるリンパ球数の増加は, ドナー由来の RT 6 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つた。すなわち, 脾が生着した 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 RT 6 アロ抗原陽性 T 細胞によるマクロキメリズムが脾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, IDDMに対する脾移植によって, 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, IDDM 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る。