



Title	Protection of islet allografts transplanted together with Fas ligand expressing testicular allografts
Author(s)	武田, 裕
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40761
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	武 田 裕 ^{たけ だ ゆたか}
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 7 5 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10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	Protection of islet allografts transplanted together with Fas ligand expressing testicular allografts. (マウス同種膵島・睾丸片同時移植-Fas リガンドを表出する睾丸片によるアポトーシス誘導に基づいたアロ拒絶反応の制御)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 宮 坂 昌 之 教 授 白 倉 良 太

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

以前より眼球はウイルス感染を受けても細胞浸潤が少なく、また睾丸においては同種、異種移植片が長期に生着することが示されていた。最近これらの部位に Fas リガンド (FasL) の発現が高く、Fas(APO-1, CD95)を表出する活性化T細胞をアポトーシスに陥らせるため、細胞浸潤や拒絶が抑制されとの報告がなされた。一方、遺伝子導入の手法を用いて FasL を発現させた移植片は、逆に好中球の浸潤を誘発し、早期に拒絶されるという相反する結果も報告されている。本研究では Fas/FasL を介した免疫機作が、移植片の拒絶を制御しうるものかどうかを、生理的な FasL を表出する睾丸を用いた睾丸・膵島同時移植の系において検討した。

【方法】

膵島及び睾丸片のドナーとして、C3H 及び機能的な FasL を欠如した C3H-gld を用いた。またレシピエントとして、C57BL/6 (B6)及び機能的な Fas を欠如した C57BL/6-lpr (B6-lpr) を用いた。始めに睾丸片のみ腎被膜下に移植し、拒絶反応の有無を組織学的に検討した。次にストレプトゾトシンにより糖尿病を誘発した B6、または B6-lpr に C3H の膵島約300個 (2 μ l) と、C3H 又は C3H-gld の睾丸片 2 μ l (約 4 \times 10⁵ 個の Sertoli cell) を混合しを腎被膜下に移植した。得られた生着延長効果が Fas/FasL を介したものを明らかにするため、移植後、抗 FasL モノクローナル抗体 (K10) を投与 (0.1mg i.p. day2,4,6) した。また生着延長効果が、全身的な免疫反応によるものか、局所の免疫反応によるものかを明らかにするため、B6の左右腎被膜下に C3H の膵島と睾丸片を別個に移植した。移植後 8 日目に移植片を摘出し、細胞浸潤の程度および移植膵島の組織学的検索を行った。Fas, FasL の発現は免疫組織化学染色を用いて、またアポトーシスの有無は TUNEL 法にて検索した。

【成績】

B6の腎被膜下に移植された C3H の睾丸片は細胞浸潤が少なく 3 週目まで組織の生着が認められたが、C3H-gld の睾丸片、B6-lpr に移植された C3H の睾丸片は早期に拒絶された。C3H の膵島のみを移植した群では平均生着日数は 10.6 \pm 2.2日 (n=11) であったが、C3H の膵島と C3H の睾丸片を同時に移植した群では、17.5 \pm 9.1日 (n=18) と有意な生着延長効果が認められた (P<0.01)。一方、C3H の膵島と C3H-gld の睾丸片の移植群では10.4 \pm 2.6日 (n=9),

C3H の脾島と C3H の睾丸片の B6-lpr への移植群でも 9.8 ± 3.4 日 ($n=10$) と生着延長は認められず、この生着延長効果は、生理的な Fas/FasL の存在下でのみ認められた。また、抗 FasL 抗体投与により 11.8 ± 2.0 日 ($n=9$) と生着延長効果は消失したことから、この効果は、Fas/FasL を介した免疫反応であることが明らかとなった。また移植睾丸片を半量にした群では生着延長効果は認められず、この生着延長効果は容量依存的であった。さらに左右腎被膜下に C3H の脾島と睾丸片を別個に移植した群では生着延長を認めなかったことからこの生着延長効果は、全身的な免疫反応によるものではなく、局所のみ免疫反応によることが推察された。組織学的検索では、いずれの群においても単核球を主とした細胞浸潤を認めたが、生着延長のみられた群では細胞浸潤が比較的少なく、形態のよく保たれた脾島が認められた。免疫組織化学的に、C3H の脾島は Fas 陰性であり、浸潤細胞は Fas 陽性であった。C3H の睾丸片を移植した群でのみ FasL が陽性であった。TUNEL 法により同定した浸潤細胞のアポトーシスは、C3H の脾島と C3H の睾丸片を混合した場合にのみ見られた。

【総括】

脾島を睾丸片と同所性に移植すると、脾島の拒絶反応が抑制された。この拒絶反応の抑制効果は、機能的な FasL を欠如した C3H-gld の睾丸片の移植、あるいは Fas を欠如したレシピエントでは、誘導されないことから Fas/FasL を介した免疫反応であることが確認された。また対側腎への睾丸片移植で生着延長が認められなかったことから局所において拒絶反応が抑制されたものと考えられた。FasL を生理的に発現する睾丸片を用いることにより、局所において Fas/FasL を介して T 細胞のアポトーシスが誘導され、移植片の拒絶反応が制御できることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

抗原刺激により活性化された T 細胞は Fas 抗原を発現するようになり、さらに一定期間後、Fas リガンド (FasL) によりアポトーシスに陥るようになる。この FasL を遺伝子導入により発現させた移植片を移植し、リンパ球浸潤を抑制し拒絶反応を抑制するという試みがある。しかし最近、逆に好中球浸潤を促進し急性拒絶反応を引き起こすという相反する報告もあり、その効果および機序は明らかにされていなかった。本研究は、マウスの系において生理的に FasL を表出している睾丸片と脾島を混合し腎被膜下に移植することにより、移植片の有意な生着延長効果が得られることを明らかにした。さらにその機序として、FasL を表出する睾丸片により、Fas を表出するレシピエントの活性化 T 細胞がアポトーシスに陥り、脾島の拒絶が抑制されることを明らかにした。またこの生着延長効果が、全身的な免疫反応ではなく局所の免疫反応を介して誘導されることを証明した。本研究は、生理的な FasL を表出する睾丸片を脾島と混合して移植することで、脾島の拒絶が制御されることを初めて明らかにしたもので、移植・免疫学的に価値あるものと評価され、博士 (医学) の学位に値するものと認める。