

Title	Locally expressed CTLA4-Ig in a pancreatic beta cell line suppresses accelerated graft rejection response induced by donor-specific transfusion
Author(s)	木村, 文彦
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43895">https://hdl.handle.net/11094/43895</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">〈a href="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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

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

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

Osaka University

氏名	木村文彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17221 号
学位授与年月日	平成 14 年 5 月 29 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科病理系専攻
学位論文名	Locally expressed CTLA4-Ig in a pancreatic beta cell line suppresses accelerated graft rejection response induced by donor-specific transfusion (膵β細胞株に発現させた CTLA4-Ig は DST によって誘導された拒絶反応を抑制する。)
論文審査委員	(主査) 教授 宮坂 昌之 (副査) 教授 門田 守人 教授 白倉 良太

#### 論文内容の要旨

##### 【目的】

I 型糖尿病に対して、インスリン産生細胞を移植する膵島移植は全膵移植に比して合理的であり、また非侵襲的な治療法と考えられる。しかし、膵島移植の一年生着率は 10% 以下であり、全膵移植と比べて著しく成績が悪い。これまでの解析から、膵島細胞自身は抗原性が低いことが知られているが、臨床的には膵島移植に平行して施行されることの多い腎移植や輸血あるいは膵島細胞に混在する抗原提示細胞などにより、レシピエントのアロ抗原に対する反応性が亢進している場合が多く、膵島移植の成績を向上させるためには膵島細胞に対する拒絶反応を抑制することが重要である。そこで、私はマウス膵β細胞 MIN6 を用い、免疫抑制活性を持つ CTLA4-Ig を遺伝子導入することにより DST (donor specific transfusion) によって誘導される MIN6 細胞の拒絶反応を抑制する事を試みた。

##### 【方法ならびに成績】

CTLA4-Ig は CTLA4 の細胞外領域と IgG の Fc 領域を連結させた分泌型融合蛋白質であり、T 細胞の抗原認識の成立に重要な副刺激伝達経路 CD28/B7 経路を遮断する。この CTLA4-Ig を C57BL/6 (H-2<sup>b</sup>) 由来膵β細胞株 MIN6 に導入し、CTLA4-Ig を構成的に発現する CTLA4-Ig/MIN6 細胞を樹立した。CTLA4-Ig/MIN6 は、親株同様に生理的グルコース濃度依存性にインスリンを分泌した。また、CTLA4-Ig/MIN6 により産生された CTLA4-Ig は B7 発現細胞に特異的に結合し、アロ抗原刺激に対する T 細胞の増殖応答を強く抑制した。親株の MIN6 細胞は、streptozotocin で糖尿病を誘発した C3H/HeJ (H-2<sup>k</sup>) マウスの腹部皮下に移植すると、C57BL/6 マウス脾臓細胞を用いた DST 依存的に拒絶される。そこで、この移植片拒絶モデルを用いて、遺伝子導入した CTLA4-Ig の MIN6 細胞の生着延長効果を、レシピエントの血中グルコース濃度を指標に解析した。その結果、親株は全て移植後 14 日以内 (平均生着日数: 10.7±2.2 日) に拒絶されたのに対し、CTLA4-Ig/MIN6 は、12 匹中 7 匹が移植後 20 日以上生着した (同: 40.5±30.7 日)。移植後 8 日目に移植片を採取し、移植片における MHC class I の発現と T 細胞の浸潤を免疫組織学的に解析した。その結果、CTLA4-Ig/MIN6 では、MIN6 細胞で認められた MHC class I 発現の増強および T 細胞の浸潤が強く

抑制されていることが認められた。また、CTLA4-Ig/MIN6に認められた生着期間の延長は、CTLA4に対する中和抗体を投与することにより消失することが確認された。次に、親株とCTLA4-Ig/MIN6を両対側に同時に移植し、それぞれの生着を検索した。その結果、移植後21日目において正常血糖を維持しているマウスからCTLA4-Ig/MIN6を抽出すると全例高血糖となったことから、MIN6に発現させたCTLA4-Igは反対側のMIN6の生着延長には寄与することではなく、CTLA4-Igによる生着延長効果は局所的な免疫抑制作用によるものであることが示唆された。また、CTLA4-Ig/MIN6により正常血糖を維持しているマウスにおいて、血清中CTLA4-Igは移植後6日日では、200~400 ng/mlであり、移植後14日以降では検出不能(<3 ng/ml)となるのに対して、免疫組織学的な解析から移植片局所では移植後72日以降もCTLA4-Igの発現を認めたことから、移植片局所に存在するCTLA4-Igが生着延長効果と密接に関連することが示唆された。

#### 【総括】

膵β細胞株MIN6細胞は、DST処置したレシピエントマウスに速やかに拒絶される。この拒絶反応に対して、遺伝子導入によりMIN6細胞に発現させたCTLA4-Igは抑制効果を示し、MIN6細胞の生着期間を有意に延長することが確認された。また、この移植片拒絶モデルにおいて、CTLA4-Igによる拒絶反応の抑制は局所的であり、移植片局所で産生されるCTLA4-Igが重要な役割を担うことが示唆された。これらの結果より、遺伝子導入により発現させた免疫制御分子による局所的な拒絶反応の抑制が、臨床的な膵島移植技術の確立に有用であることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

I型糖尿病の治療法として、膵島移植は実験段階から、実用段階に入ろうとしている。膵島細胞自身は抗原性が低いことが知られているが、臨床的には膵島移植に平行して行われることの多い腎移植や輸血などによりレシピエントの移植片に対する反応性が亢進している場合が多く、膵島細胞に対する拒絶反応の抑制技術の開発が望まれている。本研究はマウス膵β細胞株MIN6が生理的なグルコース濃度に反応しインスリンを分泌することに着目し、MIN6細胞を移植片として用いて、DST (donor specific transfusion) 依存的に拒絶されるモデル系において、遺伝子導入により膵β細胞に発現させた免疫抑制性分子CTLA4-Igが有意な生着延長効果を示し、拒絶反応を局所的に抑制することを明らかにした。本研究で得られた知見は、膵島細胞への免疫制御分子の遺伝子導入による拒絶反応の制御という新しい移植技術の開発に有用であり、学位授与に値するものと認める。