



Title	A study of the xenoantigenicity of adult pig islets cells
Author(s)	菰田, 弘
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45358">https://hdl.handle.net/11094/45358</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	二 孤 田 弘
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 18518 号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	A study of the xenoantigenicity of adult pig islets cells (ブタ臍島細胞の抗原性についての検討)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 噴 (副査) 教授 福澤 正洋 教授 宮崎 純一

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

現在、移植医療においてドナー不足は深刻な問題である。ドナー不足を解消する方法としてブタをドナーとする異種移植があげられる。ブタからヒトへの異種移植においては、 $\alpha\text{-Ga1}$  抗原を主とする異種抗原とヒト血清中の自然抗体が反応し、それにより補体古典経路が活性化され起きる超急性拒絶反応が最大の問題とされている。近年、 $\alpha\text{-Ga1}$  抗原の生成酵素である  $\alpha\text{1,3 galactosyltransferase}$  ( $\alpha\text{1,3GT}$ ) のノックアウトブタが開発された。しかし、Hanganutziu-Deichier (H-D) 抗原を含めた  $\alpha\text{-Ga1}$  抗原以外の異種抗原 (non-Ga1 抗原) は依然として存在し、これら non-Ga1 抗原の拒絶における役割についての報告は少ない。

一方、ブタ臍島に関しては、 $\alpha\text{-Ga1}$  抗原の発現に関して様々な報告があるが、non-Ga1 抗原についての解析は報告がなく、またブタ臍島に対するヒト補体系の反応についての解析も少ない。従って、本研究においては、 $\alpha\text{-Ga1}$  抗原、Hanganutziu-Deichier (H-D) 抗原を含めたブタ臍島の抗原性および、ブタ臍島に対するヒト補体の反応性を検討する事を目的とした。

## 〔方法〕

1. ブタ臍島上の  $\alpha\text{-Ga1}$  抗原の発現は、(1)  $\alpha\text{-Ga1}$  抗原を認識する *Griffonia simplicifolia I* (GSIB4) lectin と anti-pig insulin polyclonal antibody を用いたブタ臍島の免疫染色、(2)ブタ臍島を single cell に分解し GSIB4 lectin と  $\alpha\text{-Ga1}$  抗原に対する monoclonal antibody である M-86 を用いた flowcytometry、(3)HPLC によるブタ臍島の  $\alpha\text{1,3GT}$  活性の測定により解析した。
2. ブタ臍島の抗原性は、(1)ブタ臍島をヒト血清 (NHS) と反応させた後、ヒト IgG、IgM の沈着を flowcytometry により解析、(2)H-D 抗原を chicken anti-H-D antigen polyclonal antibody を用いて flowcytometry により解析した。
3. ブタ臍島の抗原性の特徴を調べるために、(1)N 型糖鎖合成阻害剤 tunicamycin (TM)、糖脂質合成阻害剤 PDMP、neuraminidase (NA) にてブタ臍島を処理後の抗原性の変化を flowcytometry にて解析した。
- (2)次にブタ臍島を TM+NA 処理、PDMP+NA 処理を行い抗原性の変化を解析した。
4. ブタ臍島に対するヒト補体系の反応は、(1)ブタ臍島細胞を NHS と培養後、ヒト C3、C4、factorB の沈着の有無を flowcytometry にて解析した。また、(2)NHS、 $Mg^{2+}$ -EGTA-NHS、factorD deficient serum (fDD)、C1 deficient serum (C1D) を用いブタ臍島の補体依存性細胞障害を LDH assay にて解析した。

### [結果]

1. 脾臓の免疫染色および flowcytometry の結果にて、ブタ脾島細胞に  $\alpha$ -Ga1 抗原の発現は認められなかった。HPLC にて脾島内の  $\alpha$ 1,3GT 活性は認められなかった。2. ブタ脾島とヒト血清との培養にて、ブタ脾島細胞にヒト IgG、IgM の沈着を認めた。また、脾島細胞は H·D 抗原を発現していた。3. ブタ脾島細胞は、TM 处理にてヒト血清に対する抗原性が低下したが、PDMP 处理では抗原性の低下は認められなかった。NA 处理にて、ブタ脾島の H·D 抗原の低下は認めなかったが、ヒト血清に対する抗原性は低下した。ブタ脾島を TM+NA で処理した時は、TM 处理単独に比べて抗原性の差を認めなかった。PDMP+NA で処理した時は、PDMP 处理単独に比べて抗原性の低下を認めた。4. ブタ脾島とヒト血清との培養にて、ブタ脾島にヒト補体成分の C3b、C4b、fB の沈着を認めた。補体成分を枯渇させた血清を用いた細胞傷害性試験の結果にて、ブタ脾島はヒト補体系の古典経路だけでなく第2経路により障害される事が認められた。

### [総括]

1. ブタ脾島のヒト血清に対する抗原性、およびヒト補体系のブタ脾島に対する反応を解析した。
2. ブタ脾島には  $\alpha$ -Ga1 抗原の発現を認めなかった。
3. ヒト血清中には、ブタ脾島に反応する自然抗体が存在し、またブタ脾島は H·D 抗原を発現している事が認められた。
4. ヒト血清中の、ブタ脾島に反応する自然抗体は、主にブタ脾島上の H·D 抗原を含めた N 型糖鎖に反応する事が認められた。
5. ブタ脾島はヒト補体古典経路、第2経路の双方の経路にて障害される事が認められた。
6. 以上よりブタ脾島細胞は、 $\alpha$ -Ga1 抗原ではない H·D 抗原を含めた N 型糖鎖に抗原性を有しており、さらに補体系の古典経路のみならず第2経路によっても傷害されることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

移植医療における donor 不足を解決する方法としてブタをドナーとする異種移植があるが、超急性拒絶反応が問題となる。一方、組織移植である脾島移植における異種移植の拒絶反応については不明である。本研究では、ブタ脾島細胞のヒト血清に対する抗原性およびブタ脾島細胞に対するヒト補体系の反応を解析しブタ脾島に対する拒絶反応を検討した。1. ブタ脾島細胞の抗原性：脾免疫染色および flow cytometry の結果にて、 $\alpha$ -Galactosyl ( $\alpha$ -Ga1) 抗原の発現は認めなかった。HPLC にて、脾島内に  $\alpha$ -Ga1 抗原の生成酵素である  $\alpha$ 1,3GT 活性は認めなかった。しかしブタ脾島細胞は、 $\alpha$ -Ga1 抗原以外のヒト血清に対する糖鎖抗原を発現しており、その中の 1 種類である Hanganutziu-Deichier (H·D) 抗原を発現していた。さらに、細胞表面上の H·D 抗原以外の neuraminic acid を除去しても、ヒト血清に対する抗原性は低下した。また、ブタ脾島細胞の N 型糖鎖合成を阻害すると、ブタ脾島細胞の抗原性はさらに低下した。2. ブタ脾島細胞に対するヒト補体系の反応：flow cytometry の結果にて、ブタ脾島細胞にはヒト補体成分の C3、C4、B 因子とも沈着することが認められた。さらに補体依存性細胞障害性試験において、ブタ脾島細胞は、ヒト補体古典経路だけでなく第2経路により障害された。以上より、ブタ脾島細胞は  $\alpha$ -Ga1 抗原を発現せず、neuraminic acid を含む N 型糖鎖にヒトに対する抗原性を有し、補体古典経路と第2経路にて障害されることが示唆された。

本研究成果は、異種脾島移植の臨床応用のための重要な知見を示したものであり、学位の授与に値するものと認める。