

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">〈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	こも だ ひろし 菰 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 (ブタ膵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 暉 (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、Gal  $\alpha$ 1-3Gal  $\beta$ 1-4 G1 cNAc-R ( $\alpha$ -Gal) 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、 $\alpha$ -Gal 抗原の生成酵素である  $\alpha$ 1,3 galactosyltransferase ( $\alpha$ 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  $\alpha$ -Gal 抗原以外の異種抗原 (non-Gal 抗原) は依然として存在し、これら non-Gal 抗原の拒絶における役割についての報告は少ない。

一方、ブタ膵島に関しては、 $\alpha$ -Gal 抗原の発現に関して様々な報告があるが、non-Gal 抗原についての解析は報告がなく、またブタ膵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、 $\alpha$ -Gal 抗原、Hanganutziu-Deichier (H-D) 抗原を含めたブタ膵島の抗原性および、ブタ膵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. ブタ膵島上の  $\alpha$ -Gal 抗原の発現は、(1)  $\alpha$ -Gal 抗原を認識する Griffonia simplicifolia I (GSIB4) lectin と anti-pig insulin polyclonal antibody を用いたブタ膵臓の免疫染色、(2)ブタ膵島を single cell に分解し GSIB4 lectin と  $\alpha$ -Gal 抗原に対する monoclonal 抗体である M-86 を用いた flowcytometry、(3)HPLC によるブタ膵島の  $\alpha$ 1,3GT 活性の測定により解析した。2. ブタ膵島の抗原性は、(1)ブタ膵島をヒト血清 (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. ブタ膵島の抗原性の特徴を調べる目的にて、(1)N 型糖鎖合成阻害剤 tunicamycin (TM)、糖脂質合成阻害剤 PDMP、neuraminidase (NA) にてブタ膵島を処理後の抗原性の変化を flowcytometry にて解析した。(2)次にブタ膵島を TM+NA 処理、PDMP+NA 処理を行い抗原性の変化を解析した。4. ブタ膵島に対するヒト補体系の反応は、(1)ブタ膵島細胞を 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<sup>2+</sup>-EGTA-NHS、factorD deficient serum (fDD)、C1 deficient serum (C1D) を用いブタ膵島の補体依存性細胞障害を LDH assay にて解析した。

〔結果〕

1. 膵臓の免疫染色および flowcytometry の結果にて、ブタ膵島細胞に  $\alpha$ -Gal1 抗原の発現は認められなかった。HPLC にて膵島内の  $\alpha$ 1,3GT 活性は認められなかった。2. ブタ膵島とヒト血清との培養にて、ブタ膵島細胞にヒト IgG、IgM の沈着を認めた。また、膵島細胞は H-D 抗原を発現していた。3. ブタ膵島細胞は、TM 処理にてヒト血清に対する抗原性が低下したが、PDMP 処理では抗原性の低下は認められなかった。NA 処理にて、ブタ膵島の 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。ブタ膵島を TM+NA で処理した時は、TM 処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 処理単独に比べて抗原性の低下を認めた。4. ブタ膵島とヒト血清との培養にて、ブタ膵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、ブタ膵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. ブタ膵島のヒト血清に対する抗原性、およびヒト補体系のブタ膵島に対する反応を解析した。
2. ブタ膵島には  $\alpha$ -Gal1 抗原の発現を認めなかった。
3. ヒト血清中には、ブタ膵島に反応する自然抗体が存在し、またブタ膵島は 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、ブタ膵島に反応する自然抗体は、主にブタ膵島上の 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. ブタ膵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. 以上よりブタ膵島細胞は、 $\alpha$ -Gal1 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、組織移植である膵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、ブタ膵島細胞のヒト血清に対する抗原性およびブタ膵島細胞に対するヒト補体系の反応を解析しブタ膵島に対する拒絶反応を検討した。1. ブタ膵島細胞の抗原性：膵免疫染色および flow cytometry の結果にて、 $\alpha$ -Galactosyl ( $\alpha$ -Gal1) 抗原の発現は認めなかった。HPLC にて、膵島内に  $\alpha$ -Gal1 抗原の生成酵素である  $\alpha$ 1,3GT 活性は認めなかった。しかしブタ膵島細胞は、 $\alpha$ -Gal1 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、ブタ膵島細胞の N 型糖鎖合成を阻害すると、ブタ膵島細胞の抗原性はさらに低下した。2. ブタ膵島細胞に対するヒト補体系の反応：flow cytometry の結果にて、ブタ膵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、ブタ膵島細胞は、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、ブタ膵島細胞は  $\alpha$ -Gal1 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、異種膵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。