

Title	Effect of blocking the mucosal addressin cell adhesion molecule-1(MAdCAM-1) in a rat small intestinal transplantation model
Author(s)	井原, 欣幸
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47469">https://hdl.handle.net/11094/47469</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	井原 欣幸
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 20962 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Effect of blocking the mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) in a rat small intestinal transplantation model (ラット小腸移植モデルにおける mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) 抑制効果の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 福澤 正洋  (副査) 教授 平野 俊夫 教授 澤 芳樹

### 論文内容の要旨

#### [ 目的 ]

臨床における小腸移植ではその強い拒絶反応のために他の臓器移植に比べその成績は不良である。また多量の免疫抑制剤を必要とし、成績とともにその副作用も問題となる。我々は体内を循環するリンパ球のホーミング（回帰）に着目し、移植片に選択的に新たな免疫抑制療法を行うことで、従来の免疫抑制法とあわせて、小腸移植で副作用が少なく効果的に移植片生存延長を行えないかを本実験の目的とした。リンパ球が血管系とリンパ組織の間を循環する lymphocyte migration において、小腸におけるホーミングに関連する重要な分子が MAdCAM-1 である。移植により活性化されたリンパ球のホーミングに対し、合成したペプチド抗体である抗 MAdCAM-1 抗体を用いてこの分子を block することによるグラフト保護延長効果をラット小腸移植モデルにて検討した。

#### [ 方法ならびに成績 ]

Dark Agouti (DA ; RT-1<sup>a</sup>) あるいは Lewis (LEW ; RT-1<sup>b</sup>) ラットをドナーにして 30 cm の小腸をレシピエント Lewis (RT-1<sup>b</sup>) ラットに異所性に移植した。グラフト腸管の両端は Thiry-Vella loop 人工肛門とした。抗体投与群では移植時にグラフト血管内に予め合成した抗 MAdCAM-1 抗体 F(ab)<sub>2</sub> を投与し、LEW to LEW (I 群)、DA to LEW + 生理食塩水投与 (II 群)、DA to LEW + 抗体投与 (III 群) の 3 群に分けて各項目を検討した。なおグラフト生存率は人工肛門とした移植腸管の色調、粘液産生、レシピエントの個体死で判定し、検討項目はグラフト生存期間と移植術後 6 日目のグラフトの免疫組織により検討した。また術後 2 日以内のグラフト死は technical error として除外した。

まず累積生存率では III 群では II 群に比べ有意にグラフト生存延長を認めた (p<0.05)。次に術後 6 日目のグラフトを摘出し、投与した抗 MAdCAM-1 抗体に対する二次抗体で免疫染色を行ったところ、High Endthelial Venules (HEV) に一致する部位で染色が示され抗体による blocking を確認した。また蛍光免疫染色法にて MAdCAM-1 染色を行ったところ I 群でも発現は認められたが、II 群ではさらに強く発現していた。しかし II 群に比べ III 群では MAdCAM-1 の発現は抑制されていた。

次に同様に 6 日目のグラフトの病理組織を hematoxylin-eosin 染色を用いて形態学的評価を行った。II 群に比べて

Ⅲ群で絨毛の高さ、粘膜下の厚さにおいて有意に腸管組織構造が良好に保たれていた ( $p < 0.001$ )。さらにグラフト附属リンパ組織である腸間膜リンパ節 (MLN) とパイエル板 (PP) での術後 6 日目のリンパ球を分離し、FACS、および蛍光輝度ヒストグラム分析を行ったところ、PP、MLN での発現はⅡ群に比してⅢ群で CD8+T cell では有意差を認めなかったが、CD4+T cell では有意に低下していた。さらにグラフトの腸管組織での CD4+T cell、CD8+T cell の発現を蛍光免疫染色、および蛍光輝度分析にて検討したところ、Ⅲ群では CD4、CD8 両方の発現はⅡ群に比べ低下していた。これらは炎症浸潤細胞の侵入が抑制されたことにより、グラフトの生存延長が得られたものと考えられた。

#### [ 総 括 ]

本実験において抗 MAdCAM-1 抗体 F(ab)<sub>2</sub> を用いてグラフト選択的に投与することにより、グラフト腸管構造の保護、グラフト浸潤細胞主として CD4+T cell の抑制効果が観察されグラフト延長効果が得られた。これらより、移植によって感作されたリンパ球のホーミングでは小腸に発現する MAAdCAM-1 分子がリンパ球循環の重要な働きを担い、これをブロックすることでより選択的にグラフトの拒絶を抑制しうることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

【背景】リンパ球循環において、そのホーミングに関連する重要な分子が mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) である。抗 MAdCAM-1 抗体によるグラフト保護、生存延長効果を検討した。

【方法】LEW to LEW (Ⅰ群)、DA to LEW 抗体無し (Ⅱ群)、DA to LEW 抗体投与 (Ⅲ群) の 3 群に分け 30 cm の小腸を異所性に移植した。

【結果】Ⅲ群ではⅡ群に比べ有意にグラフト生存延長を認めた。術後 6 日目のグラフトの病理組織ではⅡ群に比べ良好に腸管組織構造が保たれていた。また蛍光免疫組織染色において MAdCAM-1 とその Ligand の発現が抑えられていた。FACS、蛍光輝度分析では抗体投与により CD4+T cell が有意に低下し、グラフト組織では CD4+T cell、CD8+T cell の発現が低下した。

【結語】小腸移植での抗 MAdCAM-1 抗体投与による移植片保護効果が示唆された。以上学位の授与に値すると考えられる。