

Title	Immune Tolerance Induction Using Fetal Directed Placental Injection in Rodent Models : A Murine Model
Author(s)	高橋, 恵
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55755
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	高橋 恵
論文題名 Title	Immune Tolerance Induction Using Fetal Directed Placental Injection in Rodent Models: A Murine Model (抗原提示細胞の妊娠早期胎盤への直接注入法はマウス免疫寛容を誘導する)
論文内容の要旨	
<p>〔目 的(Purpose)〕</p> <p>免疫系の未熟な時期に外来抗原に暴露させることで、その抗原に対する免疫寛容を誘導できることが報告されている。それにより生後の骨髄移植の際の拒絶反応や免疫抑制剤使用による合併症を回避できると考える。ヒトの免疫系は胎生16-17週頃までに既に完成しており、理論上、妊娠16週以前での抗原暴露が必要となる。そこで、我々はヒト胎児に対して最も早期に行うことのできる子宮内侵襲的手技である絨毛穿刺の手技を用いて、胎児期超早期に経胎盤的に抗原を暴露させるマウスモデルを開発した。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>超音波装置 (visual sonics) を用いて、妊娠7-10日目のマウスの胎盤を観察し、経胎盤移植に適切な移植妊娠日令を検討した。経胎盤移植は、移植細胞としてGFP発現マウスの骨髄細胞を用いた。超音波ガイド下に、妊娠10日目の胎仔へ1匹当たり2×10^6細胞/$2.5 \mu\text{l}$または$5 \mu\text{l}$の細胞液を注入した。注入部位は、胎児側胎盤 (labyrinth層・spongiotrophoblast層) を標的とした。移植胎仔数と出生胎仔数から、この処置による生存率を検討した。移植細胞が胎仔に移行しているかどうかを、移植後30分後と1週間後に胎仔内GFP陽性細胞の有無を蛍光実体顕微鏡で観察した。また生後にGFP蛋白に対する免疫寛容誘導の有無を、皮膚移植、GFP陽性皮膚移植による抗GFP抗体産生の有無 (ELISA法)、GFP蛋白に対するT細胞性免疫反応の有無 (ELISPOT法) で比較検討した。</p>	
<p>〔総 括(Conclusion)〕</p> <p>超音波による観察で、妊娠10日目のマウス胎盤は穿刺に際して大きさも十分であり、絨毛組織が完成しており、胎盤内部構造についても胎児側であるlabyrinth層・spongiotrophoblast層と母体側のdecidure層の境界を明瞭に確認することが可能であった。経胎盤骨髄移植による生存率は細胞液量$5 \mu\text{l}$では13.5%であり、細胞液量を$2.5 \mu\text{l}$に減量した場合は50%と改善を認めた。移植後30分、1週間後の胎仔を蛍光顕微鏡下に観察したところ、移植直後は胎仔の心臓を中心に、1週間後は胎仔皮膚・肝臓・脾臓・胸腺にGFP陽性細胞を認めた。移植マウスでは、GFP蛋白に対する抗GFP抗体の産生は有意に抑制され、細胞障害性T細胞の活性も抑制される傾向にあり、B細胞系・T細胞系の両方の免疫寛容が誘導可能であった。今回、我々は、超音波ガイド下に経胎盤的に、妊娠超早期のマウス胎仔へ有効に骨髄細胞を移植でき、免疫寛容を誘導し得ることを示した。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 高橋 恵

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 木村 正
	副 査	大阪大学教授 岸 一郎
	副 査	大阪大学教授 熊ノ 郷 淳

論文審査の結果の要旨

免疫系の未熟な時期に免疫寛容を誘導させることにより、生後の骨髄移植の際の拒絶反応や免疫抑制剤使用による合併症を回避できると考えた。ヒトの免疫系は胎児期早期に完成しており、理論上、妊娠16週以前での抗原暴露が必要となる。そこで、ヒト胎児に対して最も早期に行うことのできる子宮内侵襲的手技である絨毛穿刺の手技を用いて、胎児期超早期に経胎盤的に抗原を暴露させるマウスモデルを開発した。超音波装置ガイド下に、GFP発現マウスの骨髄細胞を経胎盤移植した。妊娠10日目の胎仔へ、胎児側胎盤を標的として、1匹当たり 2×10^5 細胞の細胞液を注入した。移植1週間後も胎児にGFP陽性細胞を認め、移植マウスではGFP蛋白に対する抗GFP抗体の産生は有意に抑制され、細胞障害性T細胞の活性も抑制される傾向にあり、B細胞系・T細胞系の両方の免疫寛容が誘導可能であった。

上記論文は、絨毛穿刺の手技を用いて、胎児期早期に免疫寛容を誘導できることを示した最初のものであり、学位に値すると思われる。