

Title	Role of the liver in determining alloimmune response in vitro following donor-specific spleen cell injection
Author(s)	奥山, 正樹
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58952">https://hdl.handle.net/11094/58952</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	奥山正樹
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第25152号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Role of the liver in determining alloimmune response in vitro following donor-specific spleen cell injection (ドナー抗原静脈投与後の免疫応答に対する肝の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 森 正樹 (副査) 教授 松浦 成昭 教授 奥村明之進

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

ドナー抗原投与による免疫寛容誘導における重要な因子として、抗原の投与量と投与後の移植までの期間に加えて、投与経路が強く関与するとされる。この投与経路については、あらかじめ経口的、もしくは経門脈的に抗原を投与することで免疫不応答が誘導されるという現象より、ドナー抗原投与後のレシピエントの免疫反応に関して、肝臓は重要な役割を果たしている可能性がある。つまり、肝には独自の免疫機構が存在し、肝以外の組織と異なった反応性を有しているのではないかと推察される。しかしながら、全身的に投与された抗原に対して肝がいかなる免疫反応を誘導するかについては未だ十分に解明されていない。この理由の一つとして、投与された抗原は、体循環系または門脈系のいずれの経路から投与しても肝及び肝以外の双方の組織に分散し、投与経路の違いは、抗原の分布の比率の違いにしかならないため、肝単独の反応をin vivoで検討する良いモデルがなかったことによる。そこで、本研究ではラットの同系肝移植モデルを用いて、投与された抗原が肝内のみまたは肝外のみ存在するモデルを作製し、ドナー抗原投与後の肝臓の免疫学的特異性について検討した。

## 〔 方 法 〕

ドナー・レシピエントにDA (RT1a)・WS (RT1k) ラットを用い、①DSI群 (donor-specific cell injection; DSI) : DA脾細胞 (5X10<sup>7</sup>個) を静脈注射 (DSI) した群 (ドナー抗原全身群)、②SLG群 (sensitized liver-grafted; SLG) : DSI後24時間に肝臓を摘出し、その肝臓を同系無処置ラットに移植した群 (ドナー抗原肝内集積群)、③SLR群 (sensitized liver-removed; SLR) : DSI後24時間後に肝を摘出し、同系無処置ラットの肝を移植した群 (ドナー抗原肝外集積群) の3群を作製し、以下の免疫反応(1~4)について検討した。

1. 各群での、DSI後10日目にDAラットの異所性心移植、
2. 各群での、ドナー抗原感作後1・2・3・5・7・

10日目（心移植前）と14日目（心移植後4日目）の肝臓・脾臓・移植心内のサイトカイン（IFN- $\gamma$ ・IL-2・IL-4・IL10・Perforin）の変動についてRT-PCR法での測定、3. T細胞系の反応についてドナー抗原感作後10日目の心移植前の時点でMixed lymphocyte reaction（MLR）での測定、4. B細胞系の反応について心移植後1・3・5・7・10・14日目にフローサイトメトリーで血清中の抗体レベル（IgG・IgG1・IgG2a）の測定。

#### 〔 結 果 〕

1. 移植心の生着（mean $\pm$ SEM）はSLG群では4.5 $\pm$ 0.5日とDSI群の10.5 $\pm$ 0.7日に比べ有意な短縮が、さらには、SLR群では25.4 $\pm$ 1.9日と有意な延長が認められた。2. 各臓器でのサイトカインの変動については、SLG群ではドナー抗原感作後早期にIFN- $\gamma$ （Th1）が肝臓で上昇し、SLR群では脾臓でIFN- $\gamma$ ・IL-2（Th1）が上昇していた。3. ドナー抗原感作後10日目の心移植前の時点でのT細胞系の反応であるMLRは、SLG群がDSI群やSLR群に比べ有意に増加した。4. 心移植後のB細胞系の免疫反応の指標であるIgMからIgGへのswitchingに差はなかった。以上の結果より、異所性心移植片は、肝臓のみにアロ抗原が存在している場合には短期間に拒絶され、逆に、肝外にのみ存在する場合には、生着期間が延長し、さらにその機序については、アロ抗原に対する早期のTh1の反応が肝臓と脾臓以外の臓器で明らかに異なることが示された。

#### 〔 総 括 〕

ラットの同系肝移植の手法を用いて、投与したアロ抗原が肝のみに、または肝外にのみ存在する実験モデルを作製し、肝臓はアロ抗原投与後の免疫反応において重要な役割を有することが示された。

### 論文審査の結果の要旨

#### 〔 目 的 〕

ドナーアロ抗原投与によるレシピエントの免疫反応に関して、肝臓は重要な役割を果たしている可能性があるが、全身的に投与された抗原に対して肝がいかなる免疫反応を誘導するかについては未だ十分に解明されていない。そこで、本研究ではラットの同系肝移植モデルを用いて、投与された抗原が肝内のみまたは肝外にのみ存在するモデルを作製し、ドナー抗原投与後の肝臓の免疫学的特異性について検討した。

#### 〔 方 法 〕

ドナー・レシピエントにDA（RT1a）・WS（RT1k）ラットを用い、①DSI群（donor-specific cell injection;DSI）：DA脾細胞（ $5 \times 10^7$ 個）を静脈注射（DSI）した群（ドナー抗原全身群）、②SLG群（sensitized liver-grafted;SLG）：DSI後24時間に肝臓を摘出し、その肝臓を同系無処置ラットに移植した群（ドナー抗原肝内集積群）、③SLR群（sensitized liver-removed;SLR）：DSI後24時間後に肝を摘出し、同系無処置ラットの肝を移植した群（ドナー抗原肝外集積群）の3群を作製した。これらの各群において、1. DSI後10日目にDAラットの異所性心移植、2. ドナー抗原感作後1・2・3・5・7・10日目（心移植前）と14日目（心移植後4日目）の肝臓・脾臓・移植心内のサイトカイン（IFN- $\gamma$ ・IL-2・IL-4・IL10・Perforin）の変動についてRT-PCR法での測定、3. T細胞系の反応についてドナー抗原感作後10日目の心移植前の時点でMixed lymphocyte reaction（MLR）での測定、4. B細胞系の反応について心移植後1・3・5・7・10・14日目にフローサイトメトリーで血清中の抗体レベル（IgG・IgG1・IgG2a）の測定し免疫反応について検討した。

#### 〔 結 果 〕

1. 移植心の生着（mean $\pm$ SEM）はSLG群では4.5 $\pm$ 0.5日とDSI群の10.5 $\pm$ 0.7日に比べ有意な短縮が、さらには、SLR群では25.4 $\pm$ 1.9日と有意な延長が認められた。2. 各臓器でのサイトカインの変動については、SLG群ではドナー抗原感作後早期にIFN- $\gamma$ （Th1）が肝臓で上昇し、SLR群では脾臓でIFN- $\gamma$ ・IL-2（Th1）が上昇していた。3. ドナー抗原感作後10日目の心移植前の時点でのT細胞系の反応であるMLRは、SLG群がDSI群やSLR群に比べ有意に増加した。4. 心移植後のB細胞系の免疫反応の指標であるIgMからIgGへのswitchingに差はなかった。以上の結果より、異所性心移植片は、肝臓のみにアロ抗原が存在している場合には短期間に拒絶され、逆に、肝外にのみ存在する場合には、生着期間が延長し、さらにその機序については、アロ抗原に対する早期のTh1の反応が肝臓と脾臓以外の臓器で明らかに異なる

ことが示された。

#### 〔 総 括 〕

ラットの同系肝移植の手法を用いて、投与したアロ抗原が肝のみに、または肝外にのみ存在する実験モデルを作製し、肝臓はアロ抗原投与後の免疫反応において重要な役割を有することが示された。

以上の研究は今後の移植免疫学の発展に重要な役割を果たし、学位に値するものと認める。