慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	INDUCTION OF INDEFINITE SURVIVAL OF FULLY ALLOGENEIC CARDIACGRAFTS AND GENERATION OF REGULATORY CELLS BY INTRATRACHEAL DELIVERY OF ALLOANTIGENS UNDER BLOCKADE OF THE CD40 PATHWAY.
Sub Title	マウス心移植実験におけるアロ抗原経気管投与とCD40経路の遮断による免疫寛容の誘導
Author	内田, 智夫
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.11-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031202-0011

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

INDUCTION OF INDEFINITE SURVIVAL OF FULLY ALLOGENEIC CARDIAC GRAFTS AND GENERATION OF REGULATORY CELLS BY INTRATRACHEAL DELIVERY OF ALLOANTIGENS UNDER BLOCKADE OF THE CD40 PATHWAY.

（マウス心移植実験におけるアロ抗原経気管投与とCD40経路の遮断による免疫寛容の誘導）

内田　智夫

内容の要旨

臓器移植における拒絶反応の抑制には、副作用のない特異的な免疫寛容を得る方法が理想である。拒絶反応にはT細胞の活性化が必要で、これにはMHC class IIによる抗原提示のほかに共刺激シグナルのひとつであるCD40/CD40 ligand（CD40L）経路が重要な役割をしていると考えられている。一方、従来より、アロ抗原の経口投与による免疫寛容の誘導が知られているが、経気管投与による研究はほとんど認められない。本研究は、マウスの異所性心移植実験において、アロ抗原の経気管投与と抗CD40L抗体の併用による、移植心生着の延長効果を検討することを目的とした。

生後８～12週の雄性マウスC57BL/10（H2b）、CBA（H2k）、BALB/c（H2d）を使用した。C57BL/10から取り出した心臓の上行大動脈、肺動脈をそれぞれ、CBAの腹部大動脈と下大静脈に顕微鏡下に端側吻合し、移植心の生着状態を触診で判定した。無処置では移植心は７日で拒絶された（n＝５）。移植７日前にCBAにC57BL/10の脾細胞液を気管内投与すると、移植心のmedian survival time（MST）は74日に延長した。マウスCD40Lに対するハムスターmAbであるMR-1を移植７日前にCBAに腹腔内投与するとMSTは54日であった。脾細胞液の気管内投与とMR-1を併用すると、MSTは200日以上と著明に延長した。さらにそのCBAマウスにC57BL/10とBALB/cの皮膚移植を同時に行ったところ、移植皮膚のMSTはC57BL/10が＞60日、BALB/cが14日で、有意にC57BL/10が延長しており、operational toleranceが得られたことが確認された。移植心の病理標本では200日以上経過しても白血球の浸潤は軽度で、冠動脈の内膜肥厚は認められなかった。前処置後７日経過したCBAマウスを犠牲死させ、その脾細胞液を新たに別のCBAマウスの尾静脈より注入するtransferモデルでも、移植心の生着延長効果があり、７日間という短期間でregulatory cellが誘導されることが確認された。脾細胞の替わりにアロ抗原としてK^b peptideを経気管投与した場合でも、移植心の長期生着が得られた。CBAとC57BL/10のリンパ球混合試験では、コントロールに比較して前処置した群で有意に増殖が抑制された。前処置により培養液上清中のIL-4、IL-10は変化せず、IL-2、IFN-γが低値を示し、Th1細胞の抑制を介した機序が示唆された。

我々の実験における免疫寛容の誘導には、bronchus associated lymphoid tissue（BALT）が関与していると推測される。粘膜免疫の機序の解明にかかわる興味ある結果であり、また臓器移植の臨床に応用できる可能性がある。

論文審査の要旨

移植免疫に関して経口免疫寛容を応用した研究は多いが、経気管免疫寛容に着目した研究はほとんど認められない。本研究では、マウスの心移植実験モデルにおいて、donorの脾細胞を経気管投与することによりdonor specificに免疫寛容が誘導されることが発見された。さらに抗原提示細胞とT細胞間の共刺激シグナルであるCD40ligandに対する抗体を併用すると、移植心の著明な生着延長が得られた。脾細胞の替わりにK^b peptideを用いても同様の効果が得られアロ抗原の間接認識を支持する結果であった。またtransferモデルでも免疫寛容が誘導され、regulatory cellの存在が確認できた。

審査ではまず、脾細胞の経気管投与により免疫寛容が得られるメカニズムについて質問があった。蛍光色素で標識した脾細胞の追跡では、気管リンパ節や脾臓には全く集積せず、蛍光ビーズの投与実験では主に肺胞のマクロファージと樹状細胞に取り込まれることより、経気管投与した脾細胞はすぐに分解されてそのpeptideがBALT内の抗原提示細胞により処理される機序が考えられると説明された。さらに経静脈投与や経口投与ではMSTが14日程度にしかならず、投与経路が重要であると補足があった。また、K^b peptideの投与だけでD^bなど他のMHCの反応がなぜ抑制されるのかとの質問があり、linked suppressionが考えられると回答された。Regulatory cellは主にどの分画かとの質問に対して、別の実験結果よりCD4$^+$，CD25$^+$，樹状細胞が有力候補であるとの推論が述べられた。さらにCD80，CD86，CTLA4経路を抗体によりブロックすると経気管投与による免疫寛容が抑制されると報告されているが、CD40，CD40ligand経路の遮断と効果が異なる理由について質問された。他の動物移植モデルでは両経路を同時に遮断して初めて拒絶反応が抑制されるという報告もあり、まだ不明な点が多いと説明があった。拒絶された場合の所見は前処置により違いがあるのかとの質問があり、HE染色による病理検査しか行っていないが、明らかな差はなく、一般にリンパ球の浸潤と冠動脈の肥厚が認められると回答された。経気管投与とMR1の併用でのみIFNγが抑制される理由について質問があったが、Th1の抑制が推測されるが、細胞相互の作用は不明な点が多いと説明された。また、ELISA法についてBrduを用いた測定であると確認がなされた。

なお、移植心の循環動態について質問があり、冠動脈から冠静脈、さらに右心房、右心室へ血液が還流し、心拍出量は少量であると回答された。また移植心の機能評価としてエコーやECGによるより客観的な判定が望ましいとの助言があった。

一連の実験は移植免疫に関してきわめて興味のある結果を示しており、さらに発展した研究が期待されると高く評価された。

論文審査担当者　主査　外科学　北島　政樹
外科学　四津　良平　　微生物学　小安　重夫
微生物学　石川　博通
学力確認担当者：北島　政樹、四津　良平
審査委員長：四津　良平

試問日：平成15年７月17日