

Title	B7/CTLA4 PATHWAY IS ESSENTIAL FOR GENERATING CELLS AFTER INTRATRACHEAL DELIVERY OF ALLOANTIGEN IN MICE.
Sub Title	マウス心移植実験におけるアロ抗原気管投与による拒絶反応調節性細胞の誘導と、これに対するB7-CTLA4経路の必要性
Author	秋山, 芳伸
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.1 (2005. 3) ,p.9-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050302-0009

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.

B7/CTLA4 PATHWAY IS ESSENTIAL FOR GENERATING REGULATORY CELLS AFTER INTRATRACHEAL DELIVERY OF ALLOANTIGEN IN MICE.

(マウス心移植実験におけるアロ抗原気管投与による拒絶反応調節性細胞の誘導と、これに対するB7-CTLA4経路の必要性)

秋山 芳伸

内容の要旨

移植臓器の生着はレシピエントの免疫反応の変化によりもたらされるが、その一つが特定の移植抗原に対して免疫系が不応答状態となる免疫寛容と呼ばれるものである。現在、臓器移植の場において、手術手技の向上および免疫抑制剤の進歩により臓器の長期生着が望めるようになってきているが、免疫抑制剤による全免疫系統の抑制は、感染症の発症、抗腫瘍免疫の低下による腫瘍発生を問題として提示してくる。したがって、移植臓器に対し反応する免疫系のみを制御できれば、この問題を解決できると考えられる。

すでにドナー抗原の大量経口投与により抗原特異的に移植臓器の生着延長を誘導できることが報告されているが、消化管同様、常に外来抗原にさらされている気管粘膜を介した寛容誘導に関しては、自己免疫疾患の研究においてわずかに記載されているのみである。

今回、消化管同様外界に接している気管粘膜を介した免疫寛容の研究が呼吸器自己免疫疾患の制御を目的として行われていることに注目し、移植抗原の経気管投与により、移植臓器にたいする拒絶反応の制御が可能であるか検討した。さらに免疫制御細胞の存在についても検討を加えた。

移植モデルとして、マウス異所性心移植モデルを使用した。ドナー心の上行大動脈、および肺動脈をそれぞれ、レシピエント腹部大動脈、下大静脈に顕微鏡下に吻合した。8-12週の雄性マウスを使用し、レシピエントはCBA (H-2^d)、ドナーはC57BL/10 (B10, H-2^b)、third partyとしてBALB/c (H-2^d)を用いた。無処置群および、レシピエントタイプ、およびthird partyの脾細胞の気管投与群では移植心はMedian Survival Time (MST) 7-8日にて拒絶されたが、C57BL/10の脾細胞投与群ではMST81日と有意に生着延長効果が認められた。またC57BL/10の脾細胞の気管投与を受けたCBAマウスの脾細胞を、ナイーブなCBAマウスに経静脈的に移入した実験では、このCBAマウスはthird partyの移植心は拒絶したが、C57BL/10の移植心はMST62日と生着延長効果が認められた。これによりドナー抗原(脾細胞)の経気管投与によりドナー特異的な免疫反応制御細胞が誘導されていることが証明された。

次に抗原提示細胞からT細胞への抗原提示において、その副刺激であるCD80/CD86-CB28/CTLA4の遮断がT細胞をアナジーにし、移植臓器の生着を誘導する報告があることから、本モデルにおける副刺激の役割について検討した。

CTLA4Igを用いた、APCからT細胞に対する副刺激(B7-CD28, CTLA4)の遮断による移植心生着延長効果は多数報告されているが、われわれの移植抗原の経気管投与モデルでは、B7-CD28副刺激のみならずB7-CTLA4副刺激の遮断は拒絶抑制効果、さらには調節性細胞の誘導をも妨げることとなった。この結果はCTLA4によるT細胞の活性化抑制が、移植抗原経気管投与モデルにおける移植臓器拒絶抑制にも必要であり、さらには調節性細胞の誘導にも必要であるといえた。移植臓器拒絶反応には様々なサイトカインの関与が報告されているが、一般に拒絶反応の抑制、調節にはTh2タイプのサイトカインの関与が考えられている。今回脾細胞混合培養試験および、その上清のサイトカインの定量試験の結果からもIL-4およびIL-10の関与が示唆された。

論文審査の要旨

臓器不全の最終的治療法として臓器移植が考えられるが、その拒絶反応の制御はまだまだ不完全なものである。これを解決するための移植免疫学の目標の一つが、免疫抑制剤を使うこと無く、移植臓器の生着を成し遂げる、抗原特異的(移植臓器特異的)免疫寛容導入である。

本実験から、臨床応用が可能な、移植抗原の術前経気管投与により、移植臓器に対する拒絶反応の制御が可能であることが示され、そのメカニズムとして、免疫制御細胞の存在が示唆された。さらにこの制御細胞の誘導において、抗原提示細胞からT細胞に対する副刺激B7-CTLA4が必要であることが示された。

審査ではまず、移植心の生着判定について質問があり、心拍動の触診、開腹下直視による判定、および病理組織学的判定が用いられると回答された。さらに気管投与された、脾細胞の到達部位について質問がなされた。これに対し蛍光ビーズ気管投与実験、蛍光染色した脾細胞の気管投与実験の結果から、気管投与された脾細胞は肺胞内に到達し、マクロファージに貪食されており、脾細胞そのものは、気管周囲リンパ節、脾臓では検出できなかつたと回答された。次に寛容誘導において消化管を介した場合と気管を介した場合の違いについての質問があり、消化管を介した寛容の誘導には抗原投与時に免疫をモジュレーションする抗体の投与を必要としているが、気管投与ではそれを必要としない。その理由として消化管の寛容誘導に関与している樹状細胞は、TGF-β優位にサイトカインを産生するのにに対し、肺胞内樹状細胞はIL-10優位にサイトカインを産生していることが、経消化管と経気管の寛容誘導の違いとなっている可能性があると回答された。制御細胞のポピュレーションとしては、気管投与前処置マウスの脾細胞を種々の分画に分けた移入実験で、樹状細胞とCD25陽性細胞の移入が移植心生着延長を認めたことから、この分画に制御細胞が含まれている可能性が示唆された。最後に臨床応用についての質問があり、現在の脳死移植においては術前7日前にドナー抗原を気管投与することは不可能であるが、何らかの処置を加えて気管投与から移植までのプライミングの期間を短縮できれば、また気管への抗原投与量を削減できれば、比較的早期に臨床応用が可能であろうとの助言があった。さらにペプチドの気管投与でも制御細胞が誘導できることから、ヒトMHCにおいて拒絶反応にドミナントな部分のペプチドを作成できれば、移植待機中に、このペプチドの気管内吸入を施行することにより、急性拒絶反応の抑制が可能であろうとのコメントがなされた。以上のように本研究はそのメカニズムの解明、ならびに臨床応用へ向けて、さらに検討されるべき点を残しているが、臨床応用可能な、移植抗原の経気管投与による移植臓器拒絶反応の制御を示唆した点において有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹
微生物学・免疫学 小安 重夫 外科学 四津 良平
微生物学・免疫学 石川 博通
学術確認担当者: 北島 政樹、小安 重夫
審査委員長: 小安 重夫

試問日: 平成16年11月 1日