

Title	Mixed chimerism and tolerance without whole body irradiation in a large animal model .
Sub Title	大動物モデルにおける全身照射を使用しない混合キメリズムと免疫寛容
Author	淵本, 康史(Fuchimoto, Yasushi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.12-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030304-0012

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.

Mixed chimerism and tolerance without whole body irradiation in a large animal model.

(大動物モデルにおける全身照射を使用しない混合キメリズムと免疫寛容)

淵 本 康 史

内容の要旨

現在骨髄移植の分野では低侵襲な前処置で混合キメリズムを確立するミニトランスプラントが注目されている。血液系幹細胞の生着には放射線照射または抗癌剤などによる骨髄破壊性前処置が必要と考えられていた。しかし1997年にマウスモデルにて、大量の血液系幹細胞移植、T細胞除去、胸腺照射、短期間の免疫抑制剤の組み合わせだけで全く骨髄抑制することなく混合キメリズムの確立に成功し、これは血液系幹細胞の生着にはレシピエント骨髄内にスペースを作る必要があるという従来の概念を覆すものであった。

しかし種々の理由により、血液系幹細胞の生着はマウスにおいては大型動物ならびに人間と比較して非常に容易であり、マウスで成功した多くの前処置は大型動物ならびに人間には無効であることが多いのが事実である。この研究ではMHCの固定されたMassachusetts General Hospital (MGH) ミニブタを使って骨髄を抑制することのない低侵襲な前処置にて混合キメリズムの確立に成功した。シアトルグループ (Fred Hutchinson Center) が1997年に初めてイヌを使った大型動物モデルで非骨髄破壊前処置 (nonmyeloablative regimen) により混合キメリズムの確立に成功した。しかしシアトルグループの前処置には低量の全身照射が必要であり、全身照射を完全に排除できたのはこの研究のみである。更にシアトルグループはminor抗原のみの異なるMHCの一致した骨髄移植であったが、全身照射を全く使用しない非骨髄抑制プロトコル (nonmyelosuppressive regimen) でhaplo-identicalのMHCの異なる骨髄移植において混合キメリズムの確立に成功した。

この研究で混合キメリズムを成功させるのに重要な点はサイトカインで動員した後にロイコフェレーシスによる末梢血幹細胞を採取するテクニックにより、このアプローチに必要な大量の血液幹細胞の摂取が可能となったことが挙げられる。またトキシンを結合した抗CD3抗体 (pCD3-CR9) を使用することにより大型動物でも生着可能なレベルまで宿主の成熟T細胞を除去することが可能となったことも重要な点である。このプロトコルでは大型動物においても殆ど副作用がおこらず、非常に低侵襲で臨床応用可能と考えられた。

また混合キメリズムの確立したブタの胸腺にドナー、レシピエントの両タイプの樹状細胞が皮質-髄質移行部に存在することが確認され、ドナー、レシピエントの両抗原に対してクローン除去がおり、最も安定した中心性免疫寛容が獲得できたと推察された。ドナー腎は免疫抑制剤を全く使用せずに永久生着し、*in vitro* assayにおいてもドナー特異的免疫寛容が証明された。

臓器移植における免疫寛容やサラセミア、sickle cell anemia、慢性肉芽腫症などの非悪性血液疾患の治療で骨髄移植を利用する場合、このようにレシピエントの骨髄を破壊することのない、できるだけ低侵襲な前処置で混合キメリズムを確立することが重要と考えられる。

論文審査の要旨

混合キメリズムは非悪性血液疾患や臓器移植の免疫寛容など、治療手段として選択される疾患は多い。しかし、ドナーの血液系幹細胞の生着には、全身照射や化学療法といった骨髄抑制性前処置が必要で、その毒性のために臨床応用が進んでいないのが現状である。本研究では主要組織適合抗原 (MHC) の固定されたミニブタを使って、T細胞除去抗体、胸腺照射の後、サイトカインで動員した末梢血幹細胞を多量に移植し、30日間サイクロスポリンを使用することによりminorならびにmajor組織適合抗原の壁を越えて混合キメリズムの確立に成功した。混合キメリズムが確立されると、ドナー皮膚移植片は長期生着した。またドナー腎は免疫抑制剤を使用することなく、永久生着を示した。本研究の方法は骨髄を抑制することなく低侵襲で臨床応用可能と思われた。

審査ではサイトカインで動員され、移植された末梢血単核球細胞の分析をすべきであるとの助言がなされた。また、2匹に移植片対宿主病 (GVHD) が認められたが、その予防のために移植するドナーの細胞からT細胞の除去を行なう方法を検討すべきであるとの質問があったが、ドナー血液幹細胞の生着にはドナーのT細胞が必要であり、MHCミスマッチの場合、生着不全となる可能性が高いとの説明がなされた。しかし純化したCD34細胞を多量に移植すれば、GVHDのないドナー細胞の生着の可能性があると指摘があった。MHCのマッチしたドナーの皮膚移植で一匹は永久生着したが、一匹は最終的に拒絶されたことに関して、皮膚特異抗原によるものであると回答されたが、一概に皮膚特異抗原のためと断定はできず、class IIの強い発現など原因は種々考えられるとの指摘があった。また皮膚の特異抗原に関しては、keratinocyteを採取し、分析すれば判明する可能性も指摘された。また、ヒトに混合キメリズムを確立しても皮膚移植と同様に臓器または組織特異的な免疫寛容が必ずしも得られない可能性も指摘された。本研究では混合キメリズムの成立に胸腺照射の重要性を強調し、幼若なブタを使用しているが、ヒトでは思春期以降胸腺は殆ど萎縮するので、臨床応用には、もう少し高齢化したブタをレシピエントに選択する必要性について述べられた。

以上のように、移植免疫寛容において齧歯類では成功する種々の方法が、大型動物、人間では成功が困難な場合が多い。本研究では抗体によるT細胞除去とサイトカインで動員した多量の末梢血幹細胞の移植による骨髄非抑制性前処置にて再現可能な大型動物モデルで混合キメリズムを確立し、免疫寛容に導いたことは、この混合キメリズムを種々の疾患の治療の手段としてさらに応用できる可能性を示唆した点において臨床上有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹

内科学 池田 康夫 微生物学 小安 重夫

微生物学 石川 博通 先端医科学 河上 裕

学力確認担当者: 北島 政樹、池田 康夫

審査委員長: 池田 康夫

試問日: 平成14年11月20日