

氏 名(本 籍)	谷 口 英 樹 (茨 城 県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 1,418 号
学位授与年月日	平成 7 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	医 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	骨髓キメラにおけるドナー抗原特異的免疫寛容誘導機構の解析
主 査	筑波大学教授 医学博士 小 山 哲 夫
副 査	筑波大学教授 医学博士 大 塚 藤 男
副 査	筑波大学教授 医学博士 濱 口 秀 夫
副 査	筑波大学教授 医学博士 渡 邊 照 男
副 査	筑波大学助教授 医学博士 長 澤 俊 郎

論 文 の 要 旨

〈目的〉

臓器移植は、末期臓器不全の治療法として確立されつつある。しかし、非特異的な免疫抑制に起因する、感染症の合併や悪性腫瘍の発生率の増加などの問題が生じており、ドナー抗原特異的な免疫寛容誘導法の確立が待望されている。近年、骨髓移植の手法を用いて個体に抗原特異的免疫寛容を誘導する試みが行われつつある。骨髓キメラにおいては、自己寛容機構に基づいたドナー抗原特異的免疫寛容が獲得される。ドナー骨髓由来細胞の占める比率が低い場合においても免疫寛容が誘導されるのであれば、安全性の高い骨髓移植が期待できる。本研究では、キメリズムの程度およびドナー抗原の胸腺内発現レベルと、ドナー反応性 T 細胞のクローン消去や拒絶反応の強さとの関係を解析することにより、骨髓キメラにおいて成立する免疫寛容の誘導機構を明らかにするとともに、移植片生着に必要なキメリズムの程度を決定することを研究目的とした。

〈方法〉

限定された移植抗原に対する免疫寛容機構を検討する目的で、ドナーとして主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) クラス H1-E 抗原 α 鎖トランスジェニックマウス (Ly5.2, H-2b, I-E⁺) (E α トランスジェニックマウス), レシピエントとして致死量放射線照射した C57BL/6-Ly5.1-Pep3b (Ly5.1, H-2b, I-E⁻) (Ly5コンジェニックマウス) を用いて骨髓キメラマウスを作製した。この骨髓キメラマウスでは、Ly5のアロタイプの相違によりキメリズムを、I-E 関連性スーパー抗原 (Dvb-11) 反応性 V β 11⁺ T 細胞の比率によりドナー反応性 T 細胞クローンの消去を検討できる。骨髓移植後90-100日目に、末梢血および胸腺を採取し fluorescence activated cell sorter による解析を行い、キメリズム、レシピエント

胸腺内におけるドナー抗原 (I-E) の発現量, ドナー反応性 T 細胞のクローン消去の関係を解析した。さらに, $E\alpha$ トランスジェニックマウスからの皮膚移植を行い, キメリズム, ドナー反応性 T 細胞のクローン消去と拒絶反応の強さの関係を解析した。

〈結果〉

(1) 骨髓キメラマウスでは, $V\beta 11+CD4+CD8$ -細胞の比率はキメリズムと負の相関を示した。

(2) I-E を発現していない C57BL/6 マウス (B6.Ly5.2) の骨髓を移植したコントロールキメラと比較して, キメリズム 30% 以上の個体で有意差に $V\beta 11^+$ T 細胞のクローン消去が認められた。

(3) 80% 以上キメリズムおよび 30-60% キメリズムのレシピエントでは, 生着期間は著明に延長した。一方, 10% 未満キメリズムの群では, 生着期間の延長は認めたが, 移植後 60 日以内に全例拒絶された。

(4) 胸腺中の I-E 陽性細胞数が多いほど, I-E 反応性 $V\beta 11^+$ T 細胞のクローン消去の程度がより強く, そのような個体では皮膚移植片の生着が延長することが判明した。

〈結論〉

永続的な移植片生着には, ドナー反応性 T 細胞がクローン消去されていることが重要であり, そのためには胸腺を中心とする T 細胞分化の場にドナー由来の造血幹細胞から十分量の抗原提示細胞が供給され続けなければならない, 30% 以上の造血幹細胞レベルでのキメリズムが必要であると考えられた。また, 胸腺中の I-E 陽性細胞数が多いほど, I-E 反応性 $V\beta 11^+$ T 細胞のクローン消去の程度がより強く, 胸腺内 T 細胞分化の過程において T 細胞がペプチド/MHC 複合体と偶発的に遭遇しうる頻度によって, 負の選択の効率が規定される可能性が示唆された。

審 査 の 要 旨

臓器移植は, 末期臓器不全の治療法として確立されつつある。しかし, 非特異的な免疫抑制に起因する感染症の合併や悪性腫瘍の発生率の増加などの問題があり, ドナー抗原特異的な免疫寛容誘導法の確立が待たれている。本論文は, 骨髓移植の手法を用いて個体に抗原特異的な免疫寛容の誘導を試み, 幾つかの新知見を得た。すなわち, 永続的な移植片生着には, ドナー反応性 T 細胞クローンが消去されていることが重要であり, そのためには胸腺を中心とする T 細胞分化の場にドナー由来の造血幹細胞から十分量の抗原提示細胞が持続的に供給されなければならない, 30% 以上の造血幹細胞レベルでのキメリズムが必要であると考えられた。これらの免疫学的解析は, 抗原特異的な免疫寛容の誘導を目的とした骨髓移植プロトコルの確立のための, 重要な基礎的知見であると考えられた。

また胸腺中の I-E 陽性細胞数が多いほど, I-E 反応性 $V\beta 11^+$ T 細胞のクローン消去の程度がより強いことを示したが, これは胸腺内 T 細胞分化の過程において内因性スーパー抗原と MHC class II 抗原を介したクローン消去に MHC class II の発現量が強く関与している可能性を示唆しており, 自己寛容獲得機構という観点からも, 今後の展開が期待される新たな発見であるといえる。幾つかの新知見を有する優れた論文であり, 博士 (医学) 論文として, 適格であると判定した。

よって, 著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。