

氏 名	こ しば たか あき 小 柴 貴 明
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2604 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Implication of Immunosuppression in Tolerance after Organ Trans- plantation (臓器移植後の免疫寛容における免疫抑制の意義)
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 米 田 正 始 教 授 田 中 紘 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

Major histocompatibility complex (MHC) の異なる RA (RT1<sup>P</sup>) ラットと PVG (RT1<sup>c</sup>) ラットを、それぞれドナーとレシピエントとして用いて心臓移植を行うと RA ラットの心臓は PVG ラットに約 9 日で拒絶される。ところが、RA ラットの血液を 12 日前に PVG ラットに輸血 (donor-specific blood transfusion; DSBT) したうえで心臓移植を施行すると、RA ラットの心臓は PVG ラットに拒絶されず、長期間 (140 日以上) 拍動を続ける。この、PVG ラットに最初の心臓移植から 100 日後に再度 RA ラットの心臓を移植すると拒絶されないが、3<sup>rd</sup> party のラット (WKAH) の心臓は拒絶される。この免疫寛容が成立した PVG ラットについて詳細に調べたところ次のようなことが判明した。

- 1) DSBT を用いたことで拒絶されずに受け入れられた心臓グラフトには、DSBT を用いずに拒絶される心臓グラフトと同程度に強い単核球の浸潤を認める (HE 染色にて)。
- 2) 拒絶を受けない心臓グラフト内の Th1 タイプのサイトカインは移植後早期 (2 日後) に、拒絶を受ける心臓グラフトに比べ有意に上昇する (リアルタイム PCR にて)。
- 3) 移植を受けない心臓グラフト内の Th1 タイプのサイトカインは移植後 30 日に低下するが Th2 タイプのサイトカインは上昇する (Th2 immune deviation) (リアルタイム PCR にて)。
- 4) 拒絶を受けない心臓グラフトは Th2 の immune deviation の時期に合わせ (移植後 30 日)、Th2 タイプサイトカイン依存性にクラススイッチをする IgG のアイソタイプ (IgG1) の動脈内皮への沈着、補体 (C3) の結合を認めた (免疫組織化学にて)。また、血清中のドナー特異的 IgG1 が上昇した。
- 5) 免疫寛容が成立しているにもかかわらず、拒絶を受けない心臓グラフトには移植後 90 日して慢性拒絶の所見を見た (Serus red 染色にて)。
- 6) 免疫寛容の PVG ラットの脾細胞を軽く照射した (450rad) ナイーヴな PVG ラットに注射したのちに、RA ラットの心臓を移植すると免疫寛容を移入することができた。

これらの事実より、免疫寛容に関して以下の問題が提起された。

- a) 制御性細胞による免疫寛容は、拒絶と同様にドナー抗原に対する活発な免疫反応により誘導される。
- b) 制御性細胞による免疫寛容は、必ずしも慢性拒絶の発生を防がない。

従って、このモデルにおける最も適当な免疫抑制剤は、免疫寛容に必要な免疫反応を妨げず、しかも慢性拒絶の発生を防ぐことのできるものである。そこで、DSBT にて誘導されるこの免疫寛容モデルに対し、従来の臨床の移植で必ず用いられているステロイドを DSBT を施行するとき、あるいは移植の時期に使用したところ、ステロイドの使用により免疫寛容の成立が妨げられた。一方、ステロイドやシクロスポリン、タクロリムスのようにリンパ球の機能を抑制する免疫抑制剤ではなく、末梢血中のリンパ球を減少させることで拒絶を抑制する免疫抑制剤である FTY720 をこのモデルに使用したところ、非常に低用量のシクロスポリン (この量では慢性拒絶を抑制できない。) と FTY720 を 90 日間投与することで、免疫

寛容の成立を妨げることなく慢性拒絶を完全に抑制することができた。

以上の事実は、臨床の移植において次の2点を考慮する必要性を示唆した。

- 1) ルーチンにステロイドを使用することの意義を見直す。
- 2) 慢性拒絶を抑制するためには、従来使われていたリンパ球の機能を抑制する免疫抑制剤とは異なった作用を持つ免疫抑制剤の使用を考慮する。

#### 論文審査の結果の要旨

当研究では、ラット心移植モデルを用いドナー輸血 (donor-specific blood transfusion; DSBT) により免疫寛容誘導の実験を行った。DSBT 非投与の拒絶モデルに比べ寛容モデルでは、移植後早期グラフト内 IFN-g, IL-2 の増加 (IFN-g が10倍, IL-2 が5倍,  $p < 0.05$ )、激しいグラフト浸潤細胞, ドナー抗原に対し活発な MLR を認め、寛容誘導には、ドナーに対する能動的免疫反応が必要であることが示された。さらに、ステロイドを投与したところ、寛容誘導が妨げられた (免疫寛容群グラフト生存  $> 75$ 日, DSBT 時ステロイド群50.6日, 移植時ステロイド群58.8日  $p < 0.05$ )。また、当実験の結果は、移植後後期に Th2 優位の状況 (IFN-g/IL-10  $< 1.0$ ) が、免疫寛容の成立に必要であることが示されたが、その結果、急性拒絶を抑制するが血管内膜へ IgG, 補体の沈着を促し慢性拒絶の発生を来たすことが分かった。シクロスポリン (CsA) と異なりリンパ球の機能 (Th1) を抑制せず、末梢血リンパ球を減少させる免疫抑制剤である FTY720 を当モデルに用いたところ、極めて少量のシクロスポリンとの併用で慢性拒絶を抑制することができた (非投与群80%狭窄, FTY720 + CsA 8.5%;  $p < 0.0001$ )。

以上の研究は、臓器移植後の長期グラフト生着を目的とした免疫抑制療法を考案するために重要な示唆を与え、臨床の臓器移植の発展に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成15年2月25日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。