

氏名	吉岡秀憲 よしおかひでのり
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第760号
学位授与の日付	昭和53年11月24日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Detection of porcine-specific canine antibodies by a radioimmunological technique (ラジオイムノアッセイによる豚特異性犬抗体の測定)

論文調査委員 (主査) 教授 花岡正男 教授 浜島義博 教授 日笠頼則

### 論文内容の要旨

臓器移植においてその移植された臓器の生着の可否に影響する因子のうち臓器特異性の液体抗体の存在が同種及び異種移植上最も重要な問題である。人間の同種腎移植時にみられる Hyperacute rejection は preformed antibody によりひきおこされ、補体が活性化され、血小板及び白血球の作用により急激な血液凝固がおこる一連の現象であることがわかって来た。この結果移植後非常に早期に移植された臓器が破壊されることになる。これまで同種移植又は異種移植においてこの液体抗体を測定する方法には直接又は間接の lymphocytotoxicity assay 又は agglutination assay が行われて来たが、これらの方法は hyperacute rejection とは相関があるが、微量の抗体を検出したり、補体とは結合しない抗体を検出することは出来ない。最近組織特異性の抗体を検出する方法として radioimmunoassay により微量を検出出来ることが判明した。この研究では異種移植をモデルとし、異種間に存在する自然抗体を本法を応用して検出した。

実験には犬豚間の異種移植をモデルとし、犬に存在する豚に対する自然抗体の変化をみた。

豚のリンパ節を切除し、リンパ球を分離し、lactoperoxidase を触媒とする方法により、リンパ球の表面蛋白を  $^{125}\text{I}$  でラベルし NP-40 の下で溶解したリンパ球膜成分を抗原とした。犬の豚に対する抗体は、豚リンパ球膜抗原と培養し、この抗原抗体複合体を20% polyethylene glycol との培養により沈澱させ、 $\gamma$ 線を測定して、抗体の titration を行った。次に豚腎特異性犬抗体を描出するため体外循環を利用した異種腎移植のシステムを作成した。持続細胞分離器を使い犬の血漿を持続的に分離し、豚の腎臓を体外で環流し90分—330分後に腎に蓄積した犬の豚腎特異性抗体を citrate で描出した。同抗体を上述の方法により測定した。

次に glutaldehyde で固定した豚リンパ球を犬血清と培養した後、リンパ球を除去し、豚リンパ球により吸収された犬血清を作成した。吸収された血清の抗体価を同様の方法により測定した。

これらの radioimmunoassay により測定された抗体価を従来使っている Terasaki の方法による mi-

crocytotoxicity で測定した価と比較した。

Polyethyleneglycol (PEG) による  $^{125}\text{I}$  でラベルされたリンパ球膜抗原の溶解度を PEG の濃度で比較すると 20% PEG が 70% で最も高くなり以下の測定で 20% PEG を用いた。

正常犬の血清の豚に対する抗体価は 1:300—1:350 の間であったが lymphocytotoxicity assay では 1:4—1:16 の間で、本法が著明に感受性の高い測定法であった。

豚リンパ球で吸収された犬血清の抗体価は同じ条件下で正常犬の血清の 1:60 に対して 1:35 であり、抽出された豚腎特異性抗体の抗体価は同じ条件下で 1:250 であり、本法が抗体の測定上特異性があることが明らかとなった。この変化は Lymphocytotoxicity assay では、著明でなかった。

次に豚腎を犬の血漿で環流した前後の犬の血清における抗体価の変化も同様に測定したところ抗体の吸収を示すに十分な変化をみた。

以上の結果は、本法が従来の方法に比べ著しく感受性があると共に、特異性を有することが判明した。又本法により異種ばかりでなく同種移植時の抗体価の変化が測定され、拒否反応の重要な情報となりうると思われる。

#### 論文審査の結果の要旨

臓器移植に於て、その臓器の生着の可否に影響する因子のうち臓器特異性の液体抗体の産生が最も重要な問題である。現在腎移植患者の血清中の液性抗体を検出する方法としては direct と indirect の lymphocytotoxicity assay 及び agglutination assay によっているが、これは hyperacute rejection とは相関するが、acute or chronic rejection とは余り相関しない。更に、これらのテストは微量の抗体を検出したり、補体と結合しない抗体を検出することは出来ない。

そこで、豚のリンパ節を切除し、リンパ球を分離し、lactoperoxidase を触媒とする方法により、リンパ球の表面蛋白を  $^{125}\text{I}$  でラベルし、NP-40 で溶解し、これを抗原として、犬豚の異種移植を実験モデルとして、異種間に存在する自然抗体の変化をみた。その結果、従来の方法に較べて、著るしく感受性があると共に、特異性をも有するものであることを明らかならしめ得るに至った。

以上の研究は、本検査法が臓器移植に際しての拒否反応の発来を知る上で、感受性の高いモニターになり得ることを示唆するもので、臓器移植の成績向上に今後大いに資するものと思われる。

従って、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。