

(69)

氏名(生年月日) ^{サフ}澤 ^ダ田 ^ト登 ^キ起 ^{ヒコ}彦
 本 籍
 学位の種類 博士(医学)
 学位授与の番号 乙第1797号
 学位授与の日付 平成9年10月17日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
 学位論文題目 **Human cell-mediated rejection of porcine xenografts in an immunodeficient mouse model**
 (免疫不全ネズミを用いたヒト-ブタ間における細胞性免疫解析のための in vivo model)
 論文審査委員 (主査) 教授 笠島 武
 (副査) 教授 小林 槇雄, 出村 博

論文内容の要旨

〔目的〕

ヒト-ブタ間異種移植における細胞性免疫解析のための in vivo モデルを作製する。

〔対象および方法〕

成熟した T 細胞と B 細胞を持たない recombinase activating gene 1 deficient mice (R⁻) に MHC の確定している semi-inbred miniature swine の皮膚を移植し、その後ヒトの白血球 (hPBMC) を腹腔内に注入した。

1. 白血球の調整

hPBMC は Massachusetts General Hospital の血液センターから取得し、Ficoll density centrifugation により調整した。ブタの白血球 (pPBMC) は、miniature swine より採取し、hPBMC と同じ方法で調整した。

2. hPBMC の phenotype の確定

後で述べる in vitro culture 前後での hPBMC の phenotype の変化を確認するため、flow cytometry を行った。

3. hPBMC の in vitro stimulation

hPBMC を R⁻ に注入する前に、25Gy の放射線照射をかけた pPBMC (1×10⁸個) を stimulator として hPBMC (1×10⁸個) と 6 日間の in vitro culture を行った。

4. ブタ皮膚移植

dermatome を用いて miniature swine の皮膚を採取

し (split thickness)、直後に 8~12 週の R⁻ の体幹部に移植した。R⁻ のコントロールとして、H-2 を共有する C57BL/6 と C57BL/10 を用いた。皮膚移植に用いたブタの MHC は in vitro culture で用いた白血球の MHC と同じものとした。

5. hPBMC の adoptive cell transfer

R⁻ 1 匹に対し、1×10⁸個の in vitro culture した hPBMC を腹腔内に注入した。

6. 実験結果を、病理組織学的、免疫組織学的に評価した。

〔結果〕

1. hPBMC の R⁻ への生着

R⁻ の末梢血においては 2 週間後まで、また腹腔内には 3 週間後まで hPBMC が確認された。この hPBMC の 90% 以上が CD45⁺CD3⁺ 細胞であった。

2. R⁻ へのブタ皮膚移植

ブタ皮膚は半永久的に R⁻ に生着する。これに対し、コントロール群では全て 2 週間以内に拒絶された。

3. hPBMC によるブタ皮膚移植片の拒絶

皮膚移植術後 1 日に hPBMC を注入した場合、術後 18 日までに肉眼的な拒絶を認めた。これに対し hPBMC の注入を受けなかった群では変化は認めなかった。

4. 病理組織学的、免疫組織学的検討

皮膚移植による創傷治癒の影響を除外するため、術

後35日に hPBMC を注入し、その16日後に病理組織学的、免疫組織学的検討を行った。H & E 染色ではブタ真皮内での単核細胞の浸潤、浮腫、血管内皮の増殖および血管構築の破壊、新生を認めた。免疫組織学的にはブタ移植片へのヒト CD45⁺細胞の浸潤を認めた。これに対し R⁻の皮膚、その他の組織には明らかな変化を認めなかった。

〔考察〕

現在までヒト-ブタ間異種移植の研究は主に超急性拒絶反応に対してなされてきたもので、細胞性免疫については in vitro のデータが散見されるのみで、その結果も一定したものではなかった。これはひとえに至適な in vivo 実験モデルがなかったためと考えられ

る。今回作製したモデルはヒト-ブタ間異種移植の細胞性免疫を解析していくうえで、簡便かつ有用であると考える。

〔結論〕

1. hPBMC は R⁻に成着する。
2. R⁻はブタ皮膚移植片を拒絶できない。
3. R⁻に注入された hPBMC はブタ皮膚移植片を拒絶する。
4. 病理組織学的に、hPBMC のブタ皮膚移植片への反応は、ブタ皮膚真皮への hPBMC の浸潤、浮腫、血管内皮の増殖、血管構築の破壊などによって特徴づけられる。

論 文 審 査 の 要 旨

異種動物間の移植の拒絶の機構、殊に急性拒絶での in vitro の研究報告は少なからずみられるが、in vivo における形態学的な実験報告は少ない。本研究では成熟した T・B リンパ球を持たない recombinase activating gene 1 deficient (R⁻) マウスにブタの皮膚を移植し、ヒトのリンパ球を移入した場合での生着・拒絶の形態学的、免疫学的検討を試みている。

R⁻マウスではブタの皮膚が恒常的に生着するが、ヒトリンパ球を移入すると移植後18日まで拒絶をみた。コントロールマウスでは拒絶された。生着した皮膚の血管はブタの HLA を表出した。R⁻マウスにヒトリンパ球を移入すると移植皮膚では組織の炎症性反応がおり、組織破壊と共にヒト T リンパ球 (CD45RO⁺, CD3⁺) の浸潤をみた。異種移植での拒絶反応の in vivo の形態解析に R⁻マウスを用いる実験は移植の機構とその経緯そして治療への応用に極めて有用な方法と考えられた。

学術上極めて価値ある論文である。

主論文公表誌

Human cell-mediated rejection of porcine xenografts in an immunodeficient mouse model (免疫不全ネズミを用いたヒト-ブタ間における細胞性免疫解析のための in vivo model)

Transplantation 第63巻 第9号 1331-1338頁 (平成9年5月15日発行) 澤田登起彦, Patricia A. Della Pelle, Jorg D. Seebach, 他3名

副論文公表誌

- 1) ベンチサージェリーで腎動脈瘤を切除し移植した1例。腎と透析 32(3):479-481 (1992) 河野登起彦, 大場 忍, 石川暢夫, 八木沢隆, 中沢速和, 他5名
- 2) 経皮的ペースメーカー植え込みと高カロリー輸液用カテーテル挿入により両側鎖骨下静脈血栓症をきたした1例。透析会誌 26(2):207-212(1993) 澤田登起彦, 中川芳彦, 吉岡 隆, 米倉増男, 深沢達也, 太田和夫