



Title	マウス心移植モデルにおける移植後早期移植片浸潤細胞の免疫学的機能の変化に関する基礎的研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	巖築, 慶一
Description	配架番号 : 2519
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14055号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78279
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yoshikazu_Ganchiku_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 巖 築 慶 一

主査 豊嶋 崇徳 教授
審査担当者 副査 橋野 聡 教授
副査 清野 研一郎 教授
副査 北村 秀光 准教授

学 位 論 文 題 名

マウス心移植モデルにおける移植後早期移植片浸潤細胞の
免疫学的機能の変化に関する基礎的研究

The changes of immunological behavior during early phase graft infiltrating lymphocytes
depends on the time after cardiac transplantation in mice

申請者はマウス心移植モデルを用いて、臓器移植後早期の移植片浸潤リンパ球(GILs)の免疫学的機能、とりわけ活性化、抗原特異性の経時的変化について検討した。まず直接解析により、GILsは移植後 72 時間と 120 時間で異なる活性化状態を示すことを示した。さらに、免疫不全マウスにリンパ球を移入しその免疫系を再構築する、リンパ球再構築モデルを考案し、同モデルを用いて移植片浸潤細胞の機能解析を行った。その結果移植後 72 時間と 120 時間の移植片浸潤細胞とでアロ抗原に対する免疫応答性が異なる可能性を示した。審査は2回に分けて行われた。1回目審査では、副査の北村准教授から、本研究で用いたリンパ球再構築モデルについて、先行研究の有無について質問があり、申請者は、本実験系はヒト化マウスモデルから着想を得て考案したものであるが、マウスの細胞を使った実験は本研究が初めてであると説明した。リンパ球を腹腔内投与とした理由について質問があり、手技の難易度を考慮したことが主たる理由であると回答した。これに対し、投与ルートにより再構築される細胞の質や population が異なる可能性があるため、配慮したほうが良いとの指摘があった。さらに、今回の知見は心移植特異的なものであるのかとの質問に対し、先行研究からは脾臓移植でも同様のことが言えるのではないかと回答し、皮膚移植モデルについては、現在所属教室で検討中であるとのことであった。この研究で得られた知見の臨床応用への可能性については、Naïve な免疫系に対する適切な免疫抑制開始のタイミングを考慮する一つの指標になりうるが、感作済みの memory T 細胞を有するヒト臨床例では、memory T 細胞の制御が必要不可欠であり、免疫記憶の制御が可能となることで初めて臨床への応用が考慮できると回答した。続いて、清野教授から、本研究における新規性、特に、bystander T cell の概念の移植免疫領域における位置づけについて質問があり、移植後早期の移植片浸潤リンパ球は、ドナー抗原に対する反応性を有する「内因性メモリーT 細胞」とされる移植前に感作された集団であるという考え方が移植免疫領域では主流であり、他領域で確認されている上記概念は移植免疫でもその可能性は言及されているが、直接的な解析を試みる実験系は本実験が初であ

ると回答した。続いて、72 時間での異系、同系での **population**, 活性化が同様であるのかとの質問があり、同様の **population**, 活性化であったと回答した。最後に、自然免疫系の関わりは検討したのか質問があり、本研究では検討しなかったと回答した。以上の質疑を得て、1 回目の審査を終了した。2 回目審査では、橋野教授から、マウス心移植系について確認があった。次に、**MHC** ミスマッチは臓器移植診療で考慮されるかの質問に対し、**MHC** ミスマッチは確認するが、免疫抑制剤の使用によりミスマッチは制御可能であり、ミスマッチの存在が移植の適応に与える影響は限定的であると回答した。続いて、本研究での知見が他の臓器でも言えるのかについて、脾臓移植で同様の知見が得られる可能性があるが、皮膚移植モデルについては不明であり、現在所属教室で検証中であると回答した。本研究の知見が臨床へ応用可能か、とりわけ血液などの検体からのバイオマーカーで評価可能かとの質問があり、申請者は、腎移植や心移植ではバイオマーカーの探索が進んでいるが、信頼できるものはまだないと回答した。続いて、主査の豊嶋教授から、発表スライドにて同系移植の **GILs** の解析の時間を明記すべきことと、同系の 120 時間の解析も必要であったと指摘された。このことに関して、移植後 72 時間の移植片浸潤単核球は移植前の **population** と比べ有意に増加しており、この増加は組織の炎症反応に応答してレシピエント側から免疫細胞が浸潤してきたためと考えられると回答があった。次に、マイクロアレイの結果に関して、**CD3** 陽性細胞の **sort** 法(**gating strategy**)と純度について質問された。これに対し **CD3** 陽性細胞の純度は 97%以上であったが、**lineage** による **negative selection** は行っていないとの回答があった。続いて、リンパ球移入モデルにおいて、感作マウスがアロ移植片の拒絶後 60 日以上経過したものであることが確認され、同事実を明記するよう指導された。抗原特異性細胞の少なさと解析における細胞の均一性の観点から、特異的な **TCR** を発現する系統のマウスを使用する実験の必要性を指摘され、**OT-1** マウス-**OVA** の組み合わせによる解析は教室として今後検討していることが申請者より示された。また、本研究の結論は、実験モデルの限界を考慮すると、少し表現が強すぎるのではないかと指摘があった。最後に、学位論文の誤字についての指摘が行われ、第 2 回目の審査を終了した。

本研究は、臓器移植における、移植片浸潤リンパ球の免疫学的な特性、機能について、複数の困難な実験系を巧妙に制御しその違いを明らかにした。前述するように実験モデルはやや荒削りであり、改善の余地を残すが、随所に創意工夫が見られ、得られた結果も従来の概念に一石を投じる、非常に興味深いものである。移植後の移植片浸潤リンパ球の抗原特異的な免疫応答の有無は臨床的にも免疫抑制の要否に関わる非常に重要な問題であり、本研究の成果は今後の臨床に大きな影響を与えると考えられる。審査員一同は、研究の新規性、実験の質および量、得られた成果などを総合的に評価し、申請者が博士号(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。