



Title	早期グラフト浸潤細胞の特性を生かした免疫寛容プロトコール導入のための基礎的研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	太田, 拓児
Description	配架番号 : 2870
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16146号
Issue Date	2024-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93618
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	OTA_Takuji_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 太田 拓児

学 位 論 文 題 名

早期グラフト浸潤細胞の特性を生かした
免疫寛容プロトコール導入のための基礎的研究

(Studies on Induction of Therapeutic Protocol for immune Tolerance Utilizing the
Characteristics of Early Graft-Infiltrating Cells)

【背景と目的】

臓器移植は末期臓器不全に対する最も有効な治療法だが、移植後の拒絶反応を制御するために免疫抑制剤が必要である。しかし、長期的な免疫抑制剤の使用は副作用を引き起こすため、ドナー特異的な免疫寛容の誘導法の開発が求められている。臓器移植後の免疫応答には直接経路と間接経路があり、移植片に早期浸潤するリンパ球はエフェクター細胞の浸潤に関与するが、拒絶を直接引き起こすには不十分である。免疫寛容の誘導には T 細胞の活性化制御が必要であり、抗 CD3 抗体による免疫寛容モデルが注目されている。 α CD3F(ab')₂ を用いたマウスの移植モデルでは、投与時期を最適化することで移植片生着率が向上し、移植片浸潤細胞の特徴が明らかになってきた。しかし、ヒトではアロ抗原性を有したメモリー T 細胞が存在するため、マウスの免疫寛容プロトコールをそのまま適用することはできない。

本研究の目的は、ヒト生体により近い環境を再現するために、アロ抗原感作マウスに対して α CD3F(ab')₂ 免疫寛容プロトコールを検証し、より有効なプロトコールを開発することである。また、早期移植片浸潤リンパ球の役割を明らかにすることを目指している。

【方法】

実験動物はレシピエントマウスに雄の C57BL/6(B6)、ドナーマウスに雄の BALB/c を使用し、異所性心臓移植を行った。感作マウスは、ドナーマウスの皮膚をレシピエントマウスの体幹背側に移植し、8-12 週後に使用した。治療群は抗体 α CD3F(ab')₂ (Bio X cell) 50 μ g を 5 日間静脈内投与した。治療のタイミングにより以下の治療プロトコールを用いた: Early プロトコールは移植前日から移植 3 日目。Delayed プロトコールは移植 3 日目から移植 7 日目。Day1 プロトコールは移植 1 日目から移植 5 日目。移植片生存の有無は移植片の拍動を体表からの触知、試験開腹にて評価した。移植片浸潤リンパ球(GIL)、脾細胞を精製しフローサイトメリーにて解析した。アロ抗原感作の方法は、ドナー皮膚の移植を行い、脾細胞の輸注、再移植を行った。移植後のドナー抗原刺激の反応性は IFN γ ELISpot で評価した。

【結果】

本研究では、マウス心臓移植モデルを用いて、 α CD3F(ab')₂ 抗体療法の効果を検討した。まず、手技の習熟と安定化を図り、B6 マウスをレシピエント、BALB/c マウスをドナーとしたモデルを確立した。 α CD3F(ab')₂ の投与により、naïve レシピエントにおいては移植片生存率の延長が得られ、特に移植後 3 日目から 7 日目まで投与した Delayed 群では、長期生存が得られた。Delayed 群の移植片では、PD-1⁺ TCF1^{high} CD8⁺ T 細胞の割合が高く、Ly108 陽性細胞の割合も有意に高かった。

次に、BALB/c マウスの皮膚または心臓を移植した B6 マウスを用いて、アロ抗原感作レシピエントモデルを作成した。感作マウスでは、メモリー T 細胞分画の増加とドナー抗原刺激による IFN- γ 産生の促進が確認された。感作マウスに対する α CD3F(ab')₂ 療法の効果は、naïve マウスとは異なり、移植片生存期間の延長は限定的であった。

感作マウスの移植片浸潤細胞を検討したところ、TCF1^{low} PD-1⁺ の CD8⁺ T 細胞が増加しており、このサブセットは T-bet と EOMES の高発現を示した。また、感作マウスの移植片では、Granzyme B 発現 CD8⁺ T 細胞が有意に多く観察された。

最後に、感作マウスに対する α CD3F(ab')₂ 抗体療法の最適化を検討した。移植後 1 日目から投与を開始する Day1 プロトコールにより、移植片生存期間が有意に延長した。Day1 プロトコール群の移植片では、Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ T 細胞の割合が有意に増加し、TCF1^{high} PD-1⁺ CD8⁺ T 細胞では Ly108 の割合が高かった。

【考察】

Naïve の条件下においては Delayed プロトコールが移植片の長期生存を可能とし、移植 28 日目には Ly108⁺ PD-1⁺ TCF1^{high} CD8⁺ T 細胞の割合高かった。感作下では Delayed プロトコールの同様の効果を得ることができなかったものの、Day1 プロトコールは移植片生存を延長させた。感作下においては 3 日目の時点で細胞障害性 CD8⁺ T 細胞が浸潤しており、強力なアロ反応を抑制することは難しい。8 日目の GIL には Day1 プロトコール群で Ly108⁺ PD-1⁺ TCF1^{high} CD8⁺ T 細胞の割合が増加しており α CD3F(ab')₂ による T 細胞のリモデリング効果が「疲弊」状態に誘導した可能性が示唆され、これにより移植片生存率が延長したと考えられた。

【結論】

感作条件下で α CD3F(ab')₂ の移植後の投与時期によって、移植片における CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞の表現型変化と関連して、同種移植片の温存を促進することを可能とする。