



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_review.pdf, 審査の要旨



(様式 15)

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 太田 拓児

主査 教授 清野 研一郎
審査担当者 副査 准教授 橋本 大吾
副査 准教授 北條 慎太郎

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)

申請者はマウス異所性心移植モデルを用いて、アロ抗原感作条件下の Fc 受容体非結合型 CD3 抗体(aCD3F(ab')₂)の効果とグラフト生存に影響を与える細胞集団を同定する研究結果を報告した。本研究の移植モデルは、ナイーブ条件下に aCD3F(ab')₂ を用いた Delayed プロトコルにおいてアロ心移植の長期グラフト生存が可能であることを示し、移植後 28 日目のグラフト内に、Foxp3⁺ CD25⁺ CD4 T 細胞、Ly108⁺ TCF1^{high} PD-1⁺ CD8 T 細胞の存在を示した。アロ感作モデルの検討では、皮膚移植でアロ抗原感作したレシピエントマウスを使用し、aCD3F(ab')₂Delayed プロトコルによるグラフト生存延長効果は得られなかったことを示した。アロ感作下の解析では、Mixed lymphocyte reaction においてドナー抗原再刺激で増殖を示した CD8 T 細胞の集団において、ナイーブ群との TCF1 の発現レベルに差が生じ、TCF1^{low} PD-1⁺ CD8 T 細胞が出現したこと、移植 3 日目の時点でリンパ球のグラフト浸潤の増加、Granzyme B⁺ CD8 T 細胞が増加していること、を示した。アロ感作下の aCD3F(ab')₂ プロトコルの最適化を検討した実験では、移植後 1 日目より投与を開始する Day1 プロトコルにおいてグラフト生存が延長し、移植後 8 日目の解析において Ly108⁺ TCF1^{high} PD-1⁺ CD8 T 細胞の増加を認めたことから、疲弊化前駆細胞の存在がグラフト生存に関わる細胞集団と考察し、移植医療への応用のための展望と課題について報告した。

審査にあたり、副査の橋本准教授より aCD3F(ab')₂ 抗体の具体的な機能について質問があり、申請者はエフェクター T 細胞を除去する一方で除去されない細胞が存在しており、それらは制御性 T 細胞や Anergic な細胞に誘導される可能性があるかと回答した。また、抗体自体が T 細胞を活性化させる作用についての質問に対して、申請者は抗体の活性効果を検討

した実験結果からは、抗体添加した群でリンパ球の活性が抑制されたと回答した。続けて、**aCD3F(ab')₂** を投与するとなぜ制御性 T 細胞や **TCF1** 陽性の疲弊化細胞が出現するのか、過去の報告も踏まえ、どのように考察が可能なのか、という質問があり、申請者は **aCD3F(ab')₂** を用いた研究において、T 細胞の変化をリモデリング効果と表現していたことを紹介し、その作用メカニズムはまだ明らかになっておらず、今後の課題であると回答した。

次に副査の北條准教授より、**aCD3F(ab')₂** が結合しないリンパ球の亜集団について検討したかという質問に対して、申請者は、抗体によるリンパ球除去を検討したデータにおいて **TCR β** 陽性 **CD3** 陰性細胞が存在したが、治療抗体の影響があった可能性もあると回答した。染色も同一クローンの抗体であったのであればその検討は難しいと指摘があった。グラフト生存に関わる制御性 T 細胞や **TCF1** 陽性の疲弊化細胞はグラフト内で分化誘導されるのか、あるいは脾臓などから流入してくるのかという質問に対して、本研究の結果と、移植後にリンパ球の流入を阻害してグラフト生存が延長した過去の報告の結果から、移植後早期にグラフト浸潤する細胞集団が、グラフト内で分化誘導される可能性が高いと回答した。

最後に主査の清野教授より、本研究の背景として引用した免疫不全マウスを用いた心臓再移植モデルの実験データから早期グラフト浸潤細胞がグラフトの拒絶に関与しないと申請者が主張することは困難であり、そういった論理展開は厳しいと指摘があった。申請者は、引用したデータの実験には、手技的な課題が存在していたため、比較可能な群の作成ができなかったと回答した。その引用データでは移植された時点での細胞数が少ないので拒絶されないと理解可能であり、複数の心臓からグラフト浸潤細胞を移入される方法が考えられるのではないかと指摘があった。また、**FACS** データの **dot plot** について、**spleen** と **graft** 内のリンパ球では細胞サイズが異なるため、同一のゲートで分けてよいのか、また **TCF1** の **high**、**low** の分け方はどのように行ったのかという質問があり、申請者は、本研究の **FACS** では **spleen** と **graft** も同一ゲートで亜集団の解析に使用したこと、**TCF1** については **Isotype** コントロールを染色陰性としたときに陽性細胞には **high** と **low** の亜集団が存在することがわかり、ゲートの基準としたと回答した。同定された **Ly108⁺ TCF1^{high} CD8** T 細胞の役割はどのような考察が可能かという質問があり、申請者は、先行研究において **Ly108** および **TCF1** は、疲弊化前駆細胞のマーカーとの報告があり、本研究においても検討を行ったところ、アロ感作下の **Day1** プロトコールのグラフト浸潤細胞で同集団の増加を認めたことから、グラフト機能温存に関わる重要な分子の可能性があると、回答した。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（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。