



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Anti-inflammatory Effects of ex-vivo Generated Donor Antigen-specific Immunomodulatory Cells on Pancreatic Islet Transplantation [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Forgioni, Agustina
Description	配架番号 : 2885
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16393号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95383
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	FORGIONI_Agustina_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 Forgioni Agustina

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

学 位 論 文 題 名

Anti-inflammatory Effects of *ex-vivo* Generated Donor Antigen-specific Immunomodulatory Cells on Pancreatic Islet Transplantation

（ドナー抗原特異的免疫抑制性細胞の膵島移植における抗炎症効果）

申請者は、抗 CD80/86 抗体を用い *ex vivo* で生成されたドナー抗原特異的免疫調節細胞（Immunomodulatory cells : IMC）がマクロファージの極性化を調節する可能性について評価した。本研究では、膵島移植後の炎症性膵島障害について解析を行った。実験の結果、IMC はマクロファージの活性化を抑制し、細胞間相互作用を介して M2 表現型へのシフトを促進することが示された。この調節には、炎症性サイトカインの分泌低下、活性化マクロファージによる一酸化窒素（NO）産生の減少、M2 マクロファージによる TGF- β および IL-10 の分泌増加が関与していた。さらに、IMC による治療は、マウス同系膵島移植および異種ヒト/ブタマクロファージ・膵島共培養系の両方で膵島の生存率を向上させた。同系膵島移植の際に IMC を門脈内に共輸注すると、移植を受けたマウスの肝臓における炎症性サイトカインの mRNA 発現が抑制され、F4/80+マクロファージの数が減少した。

審査にあたり、まず副査の北條准教授は IMC の細胞組成の中で特に重要な細胞集団は何かについて質問した。これに対し申請者は、すべての細胞集団を未精製のまま使用したため、観察された抗炎症作用の主要な担い手となる細胞表現型を特定できなかったと回答した。ただし、CD4+ T 細胞を除去すると混合リンパ球反応（MLR）における IMC の抑制効果が消失することは過去の報告で示されており、CD4+ T 細胞の関与が示唆された。本細胞療法の抗炎症作用はこれまで検討されていなかったため、今後さらなる研究が必要であると申請者は述べた。また、申請者は本研究の背景として、北海道大学で実施された IMC 療法の臨床試験（生体肝移植後の免疫寛容誘導）を引用し、移植患者における制御性 T 細胞（Treg）およびその他の細胞表現型の経時的変動について説明した。申請者はこの臨床試験のフォローアップ報告を示し、循環血中の Treg 割合は患者間および同一患者内で時間とともに変動すると述べた。さらに、患者ごとの細胞表現型の違いが IMC の有効性に与える影響についても質問があった。これに対し申請者は、ドナー細胞に対する免疫学的応答や細胞表現型の違いがあっても、すべての免疫寛容を獲得した患者はフォローアップ期間中、正常な移植片機能を維持していたと試験結果

を引用して回答した。

次に、副査の橋本准教授は IMC による膵島保護効果のメカニズムについて質問した。申請者は、NO が膵島細胞のアポトーシスを促進することが過去の研究で示されているため、本研究では活性化マクロファージによる NO 産生の抑制が関与している可能性がある」と回答した。この点をさらに評価するためには、iNOS ノックアウトマウスモデルを用いることが有望な戦略であると提案した。さらに橋本准教授は、MLR 実験において CTV 標識を用いた CD3+ T 細胞サブpopulationの増殖解析が行われたかを質問した。申請者は、本研究では CD3+ T 細胞全体の増殖を報告しているが、より詳細な解析も行い、CD8+ T 細胞の増殖が IMC によって有意に抑制されていることを明らかにしたと説明した。また、膵島の臨床的な単離プロセスについても質問があった。申請者は、この手技は北海道大学病院において今後数ヶ月以内に開始される予定であると述べた。

主査の清野教授は、異種ブタ膵島 in vitro モデルの実験データに基づき、ヒト IMC が IBMIR (Instant Blood-Mediated Inflammatory Reaction) または免疫寛容に直接影響を及ぼすと断定するのは難しいのではないかと指摘した。申請者は、IBMIR にはマクロファージ活性化以外にも複数の因子が関与することを認めた上で、実験データにより、IMC が M1 表面マーカーの発現を抑制し、抗炎症性サイトカインの分泌を増加させ、結果としてブタ膵島の炎症性障害からの保護に寄与することが示されたと回答した。また、ヒト IMC が、ヒトマクロファージとブタ膵島の遺伝的な差異にもかかわらず、どのようにして膵島の破壊を防ぐのかについても質問があった。申請者は、ヒト IMC が THP-1 ヒトマクロファージの抗炎症性サイトカイン産生を促進することを示す実験データを提示し、このメカニズムが膵島保護に寄与している可能性を示した。さらに、臨床試験では CD4+ T 細胞が増加したが、本研究ではその増加が見られなかった点について質問があった。申請者は、この違いの原因として、本研究では臨床試験よりも短縮された誘導プロトコルを用いたことを挙げた。しかし、最終的な細胞産物の免疫調節効果には影響がなかったことが実験データで確認されていると説明した。最後に、IMC による治療後に観察された IL-10 分泌の増加が、マクロファージ由来であるとどのように確認したかについて質問があった。申請者は、マクロファージを含まない IMC 単独の培養系では IL-10 産生がごくわずかであったことを示し、この結果から IL-10 の主な供給源はマクロファージであると結論づけたと説明した。また、臨床試験では IMC の IL-10 分泌が増加していたが、本研究の短縮プロトコルではそのデータがない点についても質問があった。申請者は、臨床試験では 14 日間の誘導期間後に IL-10 の増加が観察されたが、短縮した培養条件ではこの増加は見られないと説明した。

この論文は、IMC の自然免疫系に対する抑制作用を初めて明らかにしたもので、今後の炎症抑制療法への応用が期待される。

審査委員一同は、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。