博士（医　学）　力　石　辰　也

学位論文題名

EFFECT OF 15-DEOXYSPERGUALIN(DSG) ON RAT KIDNEY ALLOGRAFT : IMMUNOLOGICAL MECHANISMS IMPLICATED IN PROLONGED SURVIVAL

（ラット腎移植における 15－DEOXYSPERGUALIN（DSG）の効果：生着延長機序の免疫学的検討）

学位論文内容の要旨

1）はじめに

15-deoxyspergualin （DSG）は日本で開発された免疫抑制剤で、実験的には皮膚、心、肝、膵、腎臓などの移植において移植片の生着延長効果を示す。腎移植においては既に臨床応用も開始された薬剤であるが、その免疫抑制のメカニズムや至適投与方法に関しては不明な点が多い。

今回の研究ではまず、ＤＳＧ短期投与によるラット同種腎移植片の生着延長効果を検討し、ついで得られた移植腎の生着延長効果がどのようなメカニズムで維持されているのかを解析することを目的とした。

2）実験材料及び方法

近交系ラット TO($RT1A^uB^uD^u$)をドナー、WKAH($RT1A^kB^kD^k$)をレシピエントとする腎移植を行い、DSG 非投与群と DSG 投与群(5mg/kg/day, day 4 to 7)で生着日数を比較した。

次に、TO → WKAH の腎移植を行ない、DSG で移植腎が生着している レシピエント に対し、WAKH, TO, SDJ ($RT1A^uB^uD^u$), LEJ($RT1A^uB^bD^b$), BUF($RT1A^bB^bD^b$) の５つの皮膚片を腎移植後１週、２週、または長期(>100 日）の時点で移植し、免疫寛容の状態を検討した。

また、両群の移植腎を経時的（day 4, 6, 8 ）に採取し、HE 染色、ICAM-1, LFA1, CLASS II, PCNA による免疫組織染色、および DNA Nick

End Labeling をおこなった。

更に、TO を stimulator, WKAH を responder とする MLR を行い、腎移植後長期生着 WKAH の 脾細胞を添加してその MLR 抑制能を検討した。

3）結果

生着日数は 非投与群 10.2 ± 3.1、DSG 群の生着日数は 156.6 ± 71.8 で、著明な生着延長効果が認められた。

腎移植後２週目以降に皮膚移植を行なうと、WKAH, TO の皮膚のみが生着し、他の系統の皮膚は拒絶されたことから、腎移植後２週間以降でドナー特異的な免疫寛容となっているものと思われた。

移植腎の HE 染色では両群とも同程度のリンパ球の浸潤認めたが、 DSG 投与群では、尿細管障害は軽微であった。ICAM-1, LFA1, CLASS IIの浸潤リンパ球、尿細管上皮における発現は、両群間に差はなかった。PCNA の浸潤リンパ球における陽性率は、両群間に差はなかったが、尿細管細胞では DSG 投与群で陽性率が高かった。DNA Nick End Labeling 陽性細胞数は、浸潤リンパ球に関しては両群間に差はなかったが、尿細管細胞では、ＤＳＧ群で有意に少なかった。

MLR においては、 TO → WKAH 長期生着ラットの脾細胞を添加することによって TO/WKAH の MLR は有意に抑制された。

4）考察

この実験系では、DSG は浸潤リンパ球の増殖、アポトーシスには影響を与えずにおこり始めた急性拒絶反応を抑制し、尿細管細胞はアポトーシスを免れることが示された。TO → WKAH 長期生着ラットでは、移植後２週間以降でドナー特異的な免疫寛容状態が誘導され、抑制性細胞が移植腎の維持に関与しているものと推察された。

学位論文審査の要旨

主　査　　教　授　　小野江　和　則
副　査　　教　授　　長　嶋　和　郎
副　査　　教　授　　上　出　利　光
副　査　　教　授　　小　柳　知　彦

学位論文題名

EFFECT OF 15－DEOXYSPERGUALIN(DSG) ON RAT KIDNEY ALLOGRAFT : IMMUNOLOGICAL MECHANISMS IMPLICATED IN PROLONGED SURVIVAL

（ラット腎移植における15－ＤＥＯＸＹＳＰＥＲＧＵＡＬＩＮ（ＤＳＧ）の効果：生着延長機序の免疫学的検討）

１）はじめに

15-deoxyspergualin (DSG) は日本で開発された免疫抑制剤で、実験的には皮膚、心、肝、膵、腎臓などの移植において移植片の生着延長効果を示す。腎移植においては既に臨床応用も開始された薬剤であるが、その免疫抑制のメカニズムや至適投与方法に関しては不明な点が多い。

今回の研究ではまず、ＤＳＧ短期投与によるラット同種腎移植片の生着延長効果を検討し、ついで得られた移植腎の生着延長効果がどのようなメカニズムで維持されているのかを解析することを目的とした。

２）実験材料及び方法

近交系ラット TO($RT1A^uB^uD^u$)をドナー、WKAH($RT1A^kB^kD^k$)をレシピエントとする腎移植を行い、DSG 非投与群と DSG 投与群(5mg/kg/day, day 4 to 7)で生着日数を比較した。

次に、TO → WKAH の腎移植を行ない、DSG 投与によって移植腎が生着しているレシピエントに対し、WAKH, TO, SDJ ($RT1A^uB^uD^u$), LEJ($RT1A^uB^bD^b$), BUF($RT1A^bB^bD^b$) の5種の皮膚片を腎移植後1週、2週、または長期(>100 日)の時点で移植し、免疫寛容の状態を検討した。

また、両群の移植腎を経時的(day 4, 6, 8)に採取し、HE 染色、ICAM-1, LFA1, CLASS II, PCNA による免疫組織染色、および DNA Nick End Labeling をおこなった。

更に、TO を stimulator, WKAH を responder とする MLR を行い、ＴＯ腎移植後長期生着 WKAH の 脾細胞を添加してその MLR 抑制能を検討した。

３）結果

生着日数は 非投与群 10.2 ± 3.1、DSG 群の生着日数は 156.6 ± 71.8 で、著明な生着延長効果が認められた。

腎移植後2 週目以降に皮膚移植を行なうと、WKAH, TO の皮膚のみが生着し、他の系統の皮膚は拒絶されたことから、腎移植後2 週間以降でドナー特異的な免疫寛容となっているものと思われた。

移植腎の HE 染色ではＤＳＧ投与、非投与両群とも同程度のリンパ球浸潤を認めたが、DSG 投与群では、尿細管障害は軽微であった。ICAM-1, LFA1, CLASS Ⅱの浸潤リンパ球、尿細管上皮における発現は、両群間に差はなかった。浸潤リンパ球における PCNA の陽性率は、両群間に差はなかったが、尿細管細胞ではDSG 投与群で陽性率が高かった。DNA Nick End Labeling 陽性細胞数は、浸潤リンパ球に関しては両群間に差はなかったが、尿細管細胞では、ＤＳＧ群で有意に少なかった。

MLR においては、 TO → WKAH 長期生着ラットの脾細胞を添加することによって TO/WKAH の MLR は有意に抑制された。

４）考察

この実験系では、DSG は浸潤リンパ球の増殖、アポトーシスには影響を与えることなく，誘導される急性拒絶反応を抑制し、その結果、尿細管細胞はアポトーシスを免れることが示された。 TO → WKAH 長期生着ラットでは、移植後2 週間以降にドナー特異的な免疫寛容状態が誘導され、抑制性細胞が移植腎の維持に関与しているものと推察された。

公開発表は、約２０名の聴衆の前で行われ、長嶋教授より（１）DSG 群の尿細管で PCNA 陽性率が高いのは、一度脱落した尿細管が再生していることを反映しているのかどうか、（２）尿細管障害には、細胞障害性Ｔ細胞の影響以外に、血管性拒絶反応による二次的な影響はないのか、上出教授より（１）抑制性細胞の分布の偏りについてどのように考えるか、（２）DSG によるトレランスの誘導には、移植後どの時期に投与開始するのが有効か、小野江教授より（１）腎移植後１週間目の免疫寛容状態が RT 1 特異的だとして、SDJ の皮膚が２週間目以降にも一部生着しているのはどのように考えるか、（２）Ｔ細胞の機能抑制とは具体的にはどのようなメカニズムを想定しているのか、（３）皮膚移植のコントロール群の設定に関して質問があった。また、免疫科学研究所小笠原助教授、岩渕助手より移植腎浸潤リンパ球、あるいはリンパ節細胞の細胞障害性を検討しているか、誘導された抑制性細胞を他の個体に移入することは、可能なのか等の質問があり、発表者はおおむね妥当な回答を行った。審査委員一同は、本研究の成果を評価し、博士（医学）の学位授与に値するものと判定した。