

Complete replacement of tracheal epithelia by the host promotes spontaneous acceptance of orthotopic tracheal allografts in rats

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 伊藤, 靖 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1221

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 368号	学位授与年月日	平成14年 3月26日
氏 名	伊 藤 靖		
論文題目	Complete replacement of tracheal epithelia by the host promotes spontaneous acceptance of orthotopic tracheal allografts in rats (ラット同所性気管移植において宿主気管上皮による移植片気管上皮の置換現象がもたらす移植片の自然生着促進効果について)		

博士(医学) 伊藤 靖

論文題目

Complete replacement of tracheal epithelia by the host promotes spontaneous acceptance of orthotopic tracheal allografts in rats

(ラット同所性気管移植において宿主気管上皮による移植片気管上皮の置換現象がもたらす移植片の自然生着促進効果について)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

気管の広範囲の再建を必要とする症例に対する、同種気管移植は以前より臨床的関心が持たれている。また、ラットやマウスを用いた気管移植モデルは、気管移植後の移植片狭窄や肺移植後に生じる閉塞性細気管支炎の研究に普及しているが、気管の拒絶反応は他の臓器に比べて十分に解明されていない。気管は主要組織適合性抗原(MHC分子)が完全不一致の個体間でも長期自然生着が可能な場合がある特殊な臓器とされており、ラット同所性気管移植において宿主気管上皮は移植片の上皮を置換することが報告されているが、その過程と拒絶反応の詳細については不明な点が多い。私たちは、ラット同所性気管移植モデルを用いて、組織適合性抗原の差異と、宿主の気管上皮によって移植片の上皮が置換される現象が、移植片に対する拒絶反応と狭窄の進行に与える影響について明らかにすることを目的とした。

〔方法〕

近交系雄性ラット DA(RT1^{av})、ACI(RT1^{aj})、Fischer 344(RT1^M)、Lewis(RT1^l)を使用し、9軟骨輪の長さの頸部気管を以下の7群で同所性に移植した。I群(同系移植群)：Lewis→Lewis(n=30)、II群(マイナー抗原だけが異なる組み合わせ)：ACI→DA(n=25)、III群(MHC抗原の一部とマイナー抗原が異なる組み合わせ)：Lewis→F344(n=23)、IV群(MHC抗原とマイナー抗原が完全に異なる組み合わせ)；IV-A群：DA→Lewis(n=47)、IV-B群：DA→Lewisの移植後免疫抑制剤タクロリムスを移植当日から1mg/kg/日で10日間投与(n=31)、IV-C群：DA→Lewisの移植後10日または15日後に移植片を摘出し、初回移植の宿主とは別の、未感作のLewisラットに再移植(n=11)、IV-D群：DA→Lewisの移植後10日めから1mg/kg/日で10日間タクロリムスを投与(n=6)

検討項目：1) 7群の生存期間の比較 2) 生存期間の観察結果に基づいて犠牲死予定日を設定し、その日に摘出した移植片の組織像(ヘマトキシリンエオジン染色)を観察し、NIH画像解析システムを用いて移植片中央部の閉塞率を解析 3) 免疫化学染色で、IV群についてDAラットに特異的な抗RT1A抗体を用いて気管上皮の置換過程を検討 4) I群及びIV群について、MHC分子、T細胞、樹状細胞の局在を免疫化学染色を用いて評価 5) I群、IV-A群について、移植片に浸潤するT細胞に関してフローサイトメトリーにて機能解析

〔結果〕

(1) I、II、III群で8例ずつ生存期間を観察したところ、II、III群は皮膚移植の場合は急速に移植片が拒絶されるにも関わらず、宿主は全例120日以上生存した。IV-A群では20例中3例(15%)の宿主に移植片が自然生着した。これら4群の組織像の検討では、I群以外は移植後15日以降上皮の形態は変化し、術後15日めでは組織適合性抗原の差異が大きくなるほど閉塞率が高度であった。IV-A群で移植片

の気管上皮は移植後10日めに宿主上皮に置換されている最中であつた。この群では MHC 抗原は上皮に強く発現し、CD4⁺T 細胞優位の細胞浸潤が術後 5 日め頃最大となり、CD8、CD45RC、CD25 の各表面マーカーの表出も認められたが、樹状細胞は認められなかった。フローサイトメトリーの結果、IV-A 群では免疫寛容を促進するとされる調節性 T 細胞 (CD4⁺/CD25⁺T 細胞) の存在が示唆された。

- (2) 一方、ラット心臓移植などでは移植片の100日以上の生着をもたすと言われる、タクロリムスの移植後初期の10日間の投与を行ったIV-B群で生存期間を観察した14例は、全例移植後54日めまでに死亡した。移植片の気管上皮は移植後50日めでもドナー由来のままであつた。MHC 抗原は上皮に強く存在し、CD4⁺T 細胞優位の細胞浸潤が術後30日、50日めに認められたが、CD25⁺細胞はほとんど認められなかった。
- (3) 上皮の置換が完成すると思われる頃に再移植を行ったIV-C群の11例では、5例(45.5%)の宿主に移植片が自然生着し、再移植時及び再移植後120日めの上皮はいずれも宿主由来となっていた。
- (4) 上皮の置換が進行中もしくは完成直後と思われる移植後10日めからタクロリムスを投与したIV-D群の6例は、全例移植片は生着し、移植後120日めの移植片の閉塞率はI群とほぼ同程度で、上皮は宿主由来であつた。

〔結論〕

気管移植片は組織適合性抗原が異なる宿主に対しても自然生着することが可能な場合がある。しかし、移植片上皮は MHC 抗原を強く発現しており、抗原性は弱くないと思われた。気管上皮の置換現象は独特な現象で、組織適合性抗原が完全に異なる個体間では移植後10日め頃に起きると考えられ、この現象に先立ち免疫寛容を促進する機構が関与している可能性が示唆された。免疫抑制剤を投与する際には、上皮の置換を妨げないタイミングが重要と考えられた。ラット同所性気管移植において宿主気管上皮が移植片上皮を置換する現象は、移植片の自然生着を促進すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者は、主要組織適合性抗原(MHC 分子)とマイナー抗原の異なるラットを用いて気管の同所性移植を行い生着、拒絶に関連する要因について検討した。すなわち主要抗原とマイナー抗原の異なる組み合わせのラット間の9気管軟骨輪の同所移植では、同系の移植群、マイナー抗原のみ異なる群、主要抗原の一部とマイナー抗原の異なる3群では、観察最長期間の120日以上生存した。組織の変化を光学顕微鏡標本、免疫化学染色で、また浸潤したT細胞はフローサイトメトリーで検討した。移植後15日で検討すると、抗原性の違いが大きいほど拒絶反応から来ると考えられる内腔の閉塞が強度だった。移植気管の上皮細胞は同系群以外は、移植後15日に形態の変化が認められ、上皮の置換がこの頃生じる可能性が示唆されたため、申請者はさらに主要抗原の全く異なる群間で次の実験を行った。同様の気管移植のみの群(1群)、移植直後から10日間免疫抑制剤タクロリムスを投与した2群、移植後10日または15日に移植気管を摘出して、第3のラットに再移植した3群、移植後10日めから10日間タクロリムス投与を行った4群と、4つの異なる群をつくり検討した。1群では15%で自然生着があつたが、2群では全例が54日までに死亡した。3群では45.5%、4群では全例で生着した。上皮をみると2群ではドナーのものであつたが、他の生着例では宿主の上皮に変わっており、置換は10日め頃起こることがわかつた。以上の結果から、上皮が宿主のものに置換されると拒絶反応の進行が緩徐となり、ときに自然生着が得られること、

さらに浸潤する T リンパ球に CD4⁺/CD25⁺ など調節性 T 細胞といわれるものが存在し、移植片生着に関与している可能性が示唆された。さらに免疫抑制剤タクロリムスの投与は、上皮の置換が終了した頃に投与すると拒絶反応抑制の効果が生着に有利に働くことを見つけた。

申請者は研究の内容を詳しく説明することができた。気管は抗原性の異なる同種移植でも生着の見られる興味深い組織であるが、今回の実験結果は気管の同種移植にとって貴重なデータとなる。申請者は研究の目的を十分に理解し、有用な研究成果をあげた。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 肺移植でおこる汎細気管支炎と気管の狭窄との関係
- 2) 拒絶反応として起こる気管狭窄のメカニズム
- 3) 同所移植と繊毛流の関係
- 4) 気管上皮が免疫寛容にはたらく理由
- 5) 肺移植実験と気管移植の実験モデルについて
- 6) 置換気管上皮の発生母地
- 7) 移植気管の感染について
- 8) 気管上皮とリンパ球の相互作用について
- 9) 調節性 T 細胞の発生母地について
- 10) 今までに免疫抑制剤の投与のタイミングを変えて移植片の生着が向上した報告はあるか

これらの質問に対し申請者の解答はほぼ適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査委員会全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	星 野 知 之	
	副査	大 橋 京 一	副査 上 里 忠 良