HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Application of new immunosuppressive reagnet FTY720 combined with intrathymic injection of donor spleen cells to rat pancreatico-duodenal allograft model

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 憲次 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1104

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　２５１号	学位授与年月日	平成１０年　３月２６日
氏　　名	鈴　木　憲　次		
論文題目	Application of new immunosuppressive reagnet FTY720 combined with intrathymic injection of donor spleen cells to rat pancreatico-duodenal allograft model (胸腺内脾細胞注入と併用した新しい免疫抑制剤 FTY720 のラット膵十二指腸移植モデルへの適応)		

博士(医学)　鈴 木 憲 次

論文題目

Application of new immunosuppressive reagnet FTY720 combined with intrathymic injection of donor spleen cells to rat pancreatico-duodenal allograft model.

(胸腺内脾細胞注入と併用した新しい免疫抑制剤 FTY720のラット膵十二指腸移植モデルへの適応)

論 文 内 容 の 要 旨

〔はじめに〕

臓器・組織移植に伴う拒絶反応は、遅延型アレルギー反応がその免疫生物学的反応の根本である。その中心的役割を担っているTリンパ球クローンは、免疫中枢臓器である胸腺に於いて増殖・分化をとげ、自己に対する免疫学的反応の回避、即ち免疫寛容を獲得した後、末梢の各リンパ組織に於いて非自己に対する免疫（拒絶）反応に深く関与している。本研究ではリンパ球に対して選択的にアポトーシスを誘導する薬物として最近新たに開発された免疫抑制剤、FTY720を用いて、術前単独投与、及び胸腺内アロ抗原注入に FTY720を併用させることにより全膵十二指腸移植でグラフトの生着期間の延長が得られるか否かに関し検討を行った。

〔方法〕

動物は近交系雄DAラット（RT-1^a）とLEWラット（RT-1^l）を使用し、DAドナーからLEWレシピエント、LEWドナーからDAレシピエントの組み合わせについて全膵十二指腸移植を行った。レシピエントはストレプトゾトシンを静脈内投与し、糖尿病状態とした。術後血糖値が200mg /dL 以上に上昇した日を拒絶日とした。

(実験１）以下の群についてグラフト生着期間を測定した。

１群：無処置群；

２群：FTY720を10mg/kg移植手術前日と当日の２日間経口投与した群；

DAからLEWへの組合せは、３群：FK506を1.0mg/kg移植手術当日から14日間筋肉内投与した群を追加した。

またLEWからDAへの組合せは、２－２群：FTY720を１mg/kg移植手術前日と当日の２日間経口投与した群も追加した。

さらに組織学的検討を目的として、同系移植群、異系移植群、異系移植群にFTY720を10mg/kg移植手術前日と当日の２日間経口投与した計３群について、術後５日目、７日目、14日目にグラフトを採取し、H.E.染色、及びアポタックキット（Oncor社）を用いた染色を行い、標本を観察した。

(実験２）以下の４群についてグラフト生着期間を測定した。

１群：無処置群；

２群：移植手術21日前に５×10^6個の脾細胞を胸腺内に注入した群；

３群：移植手術22、21日前の２日間にFTY720を10mg/kg経口投与した群；

４群：移植手術21日前に５×10^6個の脾細胞を胸腺内に注入し、胸腺内注入の前日と当日（移植手術22、21日前）の２日間にFTY720を経口投与した群。

〔結果〕

(実験１) DAからLEWへの移植の組合せではFTY720 (10mg/kg　２日間) の術前経口投与により生着期間の延長を認めた。一方LEWからDAへの移植の組合せでは、FTY720の術前経口投与により無処置群に比較してグラフト生着期間は著明に延長した。またFTY720を10mg/kg投与した群は１mg/kg投与した群に比較してグラフト生着期間は著明な延長を認めた。

移植片の組織学的検討でもFTY720はグラフトへの細胞浸潤を抑制する事、またFTY720の経口投与により移植片内の浸潤細胞群にアポトーシスが有意に誘導されることが示された。

(実験２) DAからLEWへの組み合わせでは無処置群に比較して、いずれの群においてもグラフト生着期間の著しい延長は認められなかった。一方、LEWからDAへの組合せでは、胸腺内脾細胞注入、及びFTY720経口投与の併用群では無処置群、胸腺内脾細胞注入のみ施行した群、FTY720単独投与群に比較して著明な生着期間の延長が認められ (P＜0.01)、４匹中３匹に100日以上の長期の生着を認めた。

〔結語〕

(1)FTY720の術前経口投与によりグラフトの生着期間は容量依存的に有意に延長した。組織学的検討ではFTY720はアポトーシスを誘導し、グラフトへの細胞浸潤を抑制する事が示された。

(2)胸腺内脾細胞注入とFTY720経口投与の併用により全膵十二指腸移植モデルに於ける長期のグラフト生着が認められ、胸腺内脾細胞注入法と抗リンパ球抗体の併用療法に代わる新たな免疫抑制法の可能性を示唆する結果が得られた。

論文審査の結果の要旨

臓器移植に伴う拒絶反応を回避する最も理想的な方法は、ドナー特異的免疫寛容の導入であることは論をまたない。この目的のため、多くの研究が行われているが、最近、注目されているものに、抗原を直接胸腺内に注入して、抗原特異的なT細胞クローンを欠失させる方法がある。この場合、すでに末梢に存在する成熟T細胞を除去するために抗リンパ球抗体が投与される。この方法は、心臓、肝臓、腎臓、膵島移植などで、評価すべき効果を上げているが、全膵十二指腸移植では、顕著な効果は得られない。そこで、申請者は最近開発された、リンパ球に選択的にアポトーシスを誘導するFTY720を用い、これの単独投与、およびこれと胸腺内アロ抗原投与を併用することにより、ラット・アロ全膵十二指腸移植での拒絶反応の抑制を試みた。

１．FTY720の術前単独投与の結果

ストレプトゾトシンを静脈内投与し、糖尿病状態にしたLEWラット (RT−1^{l}) にDAラット (RT−1^{avl}) から全膵十二指腸の移植を行った。この実験では、FTY720 (10mg/kg) を移植前日と当日の２日間経口投与した場合にグラフト生着期間の有意な延長を認めた (無処置対照群の平均生着日数9.7日に対し、14.2日)。一方、LEWからDAへ移植した実験では、DAからLEWの組み合わせに比し、拒絶反応は弱く、同じFTY720の処置で平均生着日数は40.7日と延長した。また、組織学的検索でも、FTY720はグラフトへの細胞浸潤を抑制することが示され、アポタックキットを用いた検索では、FTY720がグラフト内の浸潤細胞にアポトーシス (DNAの断片化) を誘導することが証明された。

２．胸腺内脾細胞注入とFTY720経口投与併用の結果

次の４群の検討を行った。Ⅰ群：無処置、Ⅱ群：移植21日前にドナーの脾細胞 (５×10^{6}個) を胸腺

内に注入、Ⅲ群：移植22、21日前の２日間 FTY720（10mg/kg）を経口投与、Ⅳ群：Ⅱ群とⅢ群の併用

DAからLEWへの移植では、Ⅲ～Ⅳの何れの群も、無処置群に比し、グラフト生着期間の有意な延長は認めなかった。一方、LEWからDAへの移植では、胸腺内へのドナー脾細胞注入とFTY経口投与群が他の群に比し、著明な生着期間の延長を示し、６匹中４匹に100日以上の長期生着を認めた。

これらの結果より、申請者は１）FTY720のグラフト生着日数の延長にアポトーシスによるグラフトへの細胞浸潤の抑制が関与していること、および２）胸腺内脾細胞注入と FTY720併用が拒絶反応の抑制に極めて有効であることを示した。

審査委員会では、リンパ球に選択的にアポトーシスを誘導する FTY720を胸腺内脾細胞注入と併用することにより、従来拒絶反応の抑制が困難であった全膵十二指腸移植において長期のグラフト生着が得られた点を高く評価した。

以上の研究に対し、審査委員会では以下の質疑を行った。

１）FTY720はISP−1のどこを修飾したものか
２）LEWラットからDAラットへの移植はその逆の組み合わせに比し、なぜ拒絶反応が弱いのか
３）FTY経口投与によるアポトーシスは、グラフトにのみ認められたか
４）LEWからDAへの移植でタクロリムスの効果を検討したか
５）タクロリムスを少量（0.1mg/kg）投与した場合の拒絶反応に対する効果は
６）DAからLEWへの移植では胸腺内脾細胞注入とFTY720併用が効果がないのはなぜか
７）胸腺内脾細胞注入とFTY720の併用で、ドナー特異的免疫寛容が導入できたか
８）胸腺内脾細胞注入との併用で、抗リンパ球抗体よりもFTY720の方がどの点で優れているか
９）FTY720をタクロリムスと同様に移植後２週間連続投与したらどうなるか
10）胸腺内脾細胞注入はなぜ他の薬剤との併用が必要なのか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、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員全員一致で判定した。

論文審査担当者　主査　教授　小　出　幸　夫
副査　教授　藤　田　公　生　　副査　助教授　宮　本　　愛