

## 石井 辰洋 論文内容要旨

### CD4 T-cell Regulation of Cytotoxic T cells during the Induction Phase of Liver-induced Spontaneous Tolerance in Rats

(ラット肝移植自然生着モデルの寛容導入期における CD4 T 細胞による細胞傷害性 T 細胞の抑制機構)

石井辰洋 山口淳三 古維立 橋本敏明 山本孝夫 兼松隆之

*Surgery Today* 35: 473-9, 2005

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻 (指導教授: 兼松隆之)

#### 緒言

これまで移植寛容における CD4 T 細胞の役割りや免疫生物学的性質に関して数多くの研究がなされてきたが、その中で免疫抑制作用を有する **Regulatory T cell** (以下 **RTC**) の存在が明らかとなってきた。しかしながら **RTC** による拒絶反応抑制のメカニズムに関する報告は非常に少ない。**RTC** が拒絶に働く T 細胞の機能を抑制するのか、それとも増殖を抑制するのか、あるいは除去に関与しているのかも解明されていない。また、移植片の免疫原性の変化が影響している可能性もある。本研究ではラット肝移植の自然生着モデルを用いて、寛容導入における CD4 T 細胞の役割りと **RTC** による免疫抑制機構について検討した。

#### 材料と方法

##### 1) 実験動物

雄性 **Wister Furth** ラット (以下 **WF**) 及び雄性 **Lewis** ラット (以下 **LEW**) を使用した。

##### 2) 肝移植手技

同所性肝移植を行った。胆管はステント、門脈および下大静脈はカフを用いて吻合し、肝動脈は再建しなかった。

##### 3) 血清 ALT, AST 値

拒絶反応による肝移植片傷害の指標として血清 ALT, AST 値を測定した。

##### 4) 細胞傷害性試験

**WF** の脾細胞を **LEW** 抗原 (**MMC** あるいは **PFA** 処理した **LEW** 脾細胞) によって感作して細胞傷害性 T 細胞 (以下 **CTL**) を誘導し、これを標的細胞である **LEW** 脾細胞に加えて破壊された **LEW** 脾細胞の割合を算出した。

##### 5) 抗ラット CD4, CD8 モノクローナル抗体 (以下 **CD4mAb**, **CD8mAb**)

それぞれを尾静脈より投与し、*in vivo* において CD4 T 細胞あるいは CD8 T 細胞の除去に用いた。

##### 6) 再肝移植

**LEW** から **WF** へ肝移植後 3 日目に **LEW** 移植肝を取り出し、無処置の **WF** へ再移植した。

## 結果

1) WF から LEW への肝移植（拒絶モデル）では無処置の場合は全例拒絶されるが、移植当日及び術後 2 日目に CD4mAb を投与すると全例生着した。

2) LEW から WF への肝移植（自然生着モデル）では無処置でも全例が生着するが（ALT/AST :  $69 \pm 13 / 145 \pm 31$  IU/L, POD7）、移植当日及び 2 日目に CD4mAb を投与すると無処置の場合よりも強い拒絶反応（ALT/AST :  $195 \pm 25 / 709 \pm 91$  IU/L, POD7）が出現した。そこで同モデルの寛容導入期における CD4 T 細胞の関与を調べるため移植後 21 日目、35 日目、56 日目及び 100 日目に CD4mAb を投与したところ、21 日目、35 日目には拒絶反応（ALT :  $122 \pm 22$ ,  $79 \pm 40$  IU/L）が出現したが、56 日目、100 日目では出現しなかった（ALT :  $32 \pm 4$ ,  $30 \pm 3$  IU/L）。また CD4mAb 投与の際に CD8mAb を併用したところ、21 日目及び 35 日目でも拒絶反応は出現しなかった。つまり CD4mAb 投与時の拒絶反応の主体は CD8 T 細胞（CTL）であった。

3) LEW から WF への肝移植モデルで、移植後 21 日目のモデルから採取した脾細胞からは MMC 処理もしくは PFA 処理した LEW 脾細胞による感作の両方で LEW 脾細胞を破壊する CTL が誘導されたが、移植後 56 日目のモデルから採取した脾細胞からは MMC 処理した LEW 脾細胞による感作によってのみ CTL が誘導された。つまり、移植後 56 日目のモデルからは感作 T cell が検出されなかった。

4) 再肝移植モデルで、移植後 3 日目の移植肝を無処置の WF へ再移植したところ拒絶反応は出現しなかった。つまり、移植肝の免疫刺激機能は 3 日間で消失していた。

## 結語

本研究の結果から、1) ドナーとレシピエントの組み合わせによって CD4 T 細胞が寛容導入期に主に移植片拒絶に働いている場合とトレランスに重要な役割りを果たしている場合がある。2) 自然生着モデルの寛容導入期において、移植肝の免疫原性の変化を踏まえると、RTC は T 細胞の活性化や増殖を抑制しているわけではなく CTL の機能を抑制していると考えられた。また、移植後 56 日目以降は感作 CTL 自体が排除されているかあるいは無反応となっている可能性があると考えられた。以上、ラット肝移植自然生着モデルの寛容導入期における調節機構の存在を証明したが、肝移植では症例によっては免疫抑制療法が RTC を抑制することでむしろ拒絶促進に働く可能性が示唆された。