

学 位 論 文 題 名

Analysis of Tolerance Induction in Metamorphosing *Xenopus*

(変態期のアフリカツメガエルにおける寛容性誘導機構の解析)

学位論文内容の要旨

脊椎動物の免疫システムはその発生過程において「自己」の成分に対して反応しないようにしながら、「自己」以外の成分、つまり「非自己」の成分に対する反応性を獲得していく。この自己に対する非反応性は免疫寛容性を獲得することによって成立する。その成立メカニズムとしては、自己反応性免疫細胞の消失（deletion）や不活性化（anergy）、あるいはこれら免疫細胞の反応を抑制する細胞の出現が考えられている。胸腺内に発現される抗原に対しては、deletionが起こっている可能性が、transgenic mouse等を用いた研究から示されているが、胸腺外で発現する抗原に対する寛容性誘導機構の解析は遅れている。

本研究では哺乳類と基本的に同じ免疫システムを持つ、無尾両生類の一種であるアフリカツメガエル（*Xenopus laevis*）を用いて、その変態期に誘導される免疫寛容性の成立機構の解析を行った。主要組織適合抗原複合体（Major Histocompatibility Complex; MHC）がホモであるJ系統（以下JJとす）の幼生に、JJとその近縁種である*X. borealis*（BB）とを掛け合わせて得た雑種F1（JB）由来の皮膚を移植した場合には移植片は容易に生着するが、JJ成体に移植した場合には移植片は拒絶され、寛容性は決して誘導されない。またJB皮膚移植直前にJJ幼生の胸腺を摘除すると移植片が拒絶されることから、この寛容性誘導は胸腺に依存すると考えられる。

免疫抑制剤Cyclosporin Aによる寛容性誘導の試み：

ヒトの臓器移植の際に免疫抑制剤として広く用いられているCyclosporin A（CsA）は、同種異個体由来の組織に対する拒絶反応を抑えることが知られている。本研究ではJJ成体にCsAを投与することによって、JB皮膚に対する寛容性を誘導することを試みた。CsA投与JJ成体にJB皮膚を移植したところ、CsA投与中は移植片は生着し続けたが、投与中止後すみやかに拒絶され、寛容性を誘導することはできなかった。CsA投与JJ成体にBB皮膚を移植したところ、JB皮膚を移植した場合とは異なり、CsA投与にも関わらず移植片は移植直後から拒絶された。また、JJ成体の脾臓細胞をJB成体脾臓細胞又はBB脾臓細胞と混合培養する際に、培養液にCsAを加えて、JJ脾臓細胞の分裂頻度を計測したところ、JB、BBいずれの脾臓細胞と混合培養した場合も、CsA濃度が 10^{-8} g/ml以上で分裂頻度の低下が認められた。

脾臓細胞の混合培養で分裂増殖する細胞は主にT細胞であることが知られていることから、CsAはJB、BBに対するJJ成体のT細胞の分裂を抑えると考えられ

る。しかしながらCsA投与JJ成体はBB皮膚を拒絶することから、JJ成体の免疫システムはJB皮膚に対してはT細胞に依存した反応を、BB皮膚に対してはT細胞以外の、おそらくB細胞やNatural Killer細胞に依存した反応によって、それぞれの移植片を拒絶しているものと考えられた。

寛容性誘導機構に対する胸腺の役割についての解析：

変態期のJJ幼生に見られるJB皮膚に対する寛容性は、胸腺に依存して誘導されることから、幼生胸腺の持つJB皮膚に対する抑制活性が寛容性誘導に関与すると考えられる。そこで本研究では、発生初期に胸腺を摘除した（E-Txd）JJ成体にJJ幼生胸腺を移植し、JB皮膚に対する寛容性を誘導することを試みた。幼生胸腺を移植されたE-Txd JJ成体ではJB皮膚は拒絶され、寛容性は誘導されなかったが、成体胸腺を移植されたE-Txd JJ幼生の場合は、JB皮膚に対する寛容性が誘導された。この結果から、成体胸腺でも幼生体内にある場合には、JB皮膚に対する拒絶反応を抑えて寛容性を誘導をすることが明らかとなった。

一度JJ幼生（一次宿主）に移植されて生着しているJB皮膚片（tol-JB skin）を、移植直前に胸腺を除去された（L-Txd）JJ幼生（二次宿主）に移植すると、寛容性が誘導されることから、tol-JB skinは胸腺と同じく抑制活性を持つと考えられる。そこでtol-JB skinをJJ成体に移植して、寛容性を誘導することを試みた。L-Txd JJ成体にtol-JB skinを移植すると、寛容性が誘導された個体を得られた。また、tol-JB skinと胸腺を同時にE-Txd JJ成体に移植したところ、胸腺のみを移植した場合とは異なり、E-Txd JJ成体にJB皮膚に対する寛容性が誘導された。以上の結果から、tol-JB skin 中に含まれる抑制活性の導入によってJJ成体にも寛容性を誘導できることが明らかとなった。

以上の研究結果は、脊椎動物における寛容性誘導機構の理解に役立つと考えられる。寛容性誘導機構については、哺乳類を材料にdeletionやanergyの現象を中心に研究が行われているが、抑制活性についての研究は遅れている。本研究で得られた結果は、抑制活性による寛容性誘導機構を将来分子レベルで解析する手がかりを与えるものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	鈴 木 範 男
副 査	教 授	山 下 正 兼
副 査	教 授	片 倉 晴 雄
副 査	助教授	若 原 正 己
副 査	助教授	栃 内 新

学 位 論 文 題 名

Analysis of Tolerance Induction in Metamorphosing *Xenopus*

(変態期のアフリカツメガエルにおける寛容性誘導機構の解析)

近年、免疫に関する研究が盛んに行われている。脊椎動物の免疫システムの成立は「自己を構成する成分」に対して反応せず、「非自己成分」を認識して反応性する機構の獲得、すなわち、自己に対する非反応性は免疫寛容性を獲得することによると考えられる。免疫寛容性の成立は、自己反応性免疫細胞の消失や不活性化、あるいはこれらの免疫細胞の反応を抑制する細胞が出現するためと考えられている。胸腺内に発現される抗原に対しては、消失が起こっている可能性が明らかにされているが、胸腺外にしか発現されない抗原に対する寛容性誘導機構は未解明であった。

本学位論文は哺乳類と基本的に同じ免疫システムを持つ、無尾両生類の一種であるアフリカツメガエルを用いて、その変態期に誘導される免疫寛容性の成立機構の解析を行い、

(1) 主要組織適合抗原複合体 (MHC) がホモである J 系統 (以下 JJ とす) の幼生に、JJ とその近縁種である *Xenopus borealis* (BB) とを掛け合わせて得た雑種 F1 (JB) 由来の皮膚を移植した場合には移植片は容易に生着するが、JJ 成体に移植した場合には移植片は拒絶され、寛容性は決して誘導されない。(2) JB 皮膚移植直前に JJ 幼生の胸腺を摘除すると移植片が拒絶されることを見出し、この寛容性誘導は胸腺に依存することを明らかにしたものである。

学位論文は 2 章からなり、第 1 章では、ヒトの臓器移植の際に免疫抑制剤として広く用いられている Cyclosporin A (CsA) を JJ 成体に投与する実験から CsA は JB、BB に対する JJ 成体の T 細胞の分裂反応は抑えるが、JJ 成体の免疫システムは JB 皮膚に対しては T 細胞に依存した反応を、BB 皮膚に対しては T 細胞以外の、おそらく B 細胞や NK 細胞に依存した反応によって、それぞれの移植片を拒絶していることを明らかにした。第 2 章では、寛容性誘導機構に対する胸腺の役割についての解析を行い、(1) 成体胸腺でも幼生体内にある場合には、JB 皮膚に対する拒絶反応を抑えて寛容性誘導を引き起こすことを明らかにした。(2) 一度 JJ 幼生 (一次宿主) に移植されて生着している JB 皮膚片中に含まれる抑制活性を導入することによって JJ 成体にも寛容性を誘導することができることを明らかにした。

以上の研究結果は、従来その複雑さから解析が遅れていた脊椎動物における寛容性誘導機構の理解に資するものである。よって著者は、北海道大学博士 (理学) の学位を授与される資格あるものと認める。