

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	柳川 泉一郎
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Development of a humanized mouse model to analyze antibodies specific for human leukocyte antigen (HLA) (ヒト白血球抗原特異的抗体解析ヒト化マウスモデルの作製)			
論文審査担当者			
主 査	教授 保田 朋波流	印	
審査委員	教授 神沼 修		
審査委員	准教授 藤井 輝久		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>臓器移植におけるヒト白血球抗原(HLA)ミスマッチの移植片は，細胞性免疫応答を誘導し，拒絶反応を引き起こすことがあり，移植片の予後に影響する。しかし，レシピエントとドナー間の HLA は異なる場合が多く，移植前の免疫抑制療法や抗体スクリーニング検査の進歩にもかかわらず，抗体関連型拒絶反応の免疫学的メカニズムは，現在のところ解明されていない。臓器移植の長期予後を改善するための新しい免疫療法の開発およびドナー特異的抗 HLA 抗体(DSA)分泌細胞を効果的に調節する治療法を開発するには，ヒト免疫担当細胞における DSA 産生の根底にあるメカニズムを解明が必要である。</p> <p>近年，免疫不全マウスに機能的なヒトの生細胞を生着させた「ヒト化マウスモデル」が開発された。このモデルには，免疫不全マウスに様々な種類のヒト細胞や組織などが含まれ，ヒトの免疫システムの解明を含めた多くの基礎研究に応用されてきた。しかし，現在のところ DSA 産生メカニズムを解明可能なヒト化マウスモデルは，確立されていない。著者らは，この「ヒト化マウスモデル」に着目し，ヒト末梢血単核細胞(PBMC)を重症免疫不全である NSG マウスへ投与して，ヒトの B 細胞や T 細胞を含む免疫担当細胞を再構築することにより，ヒト化マウスモデルを用いて，DSA 産生メカニズムを解明する <i>in vivo</i> モデルの確立を試みた。</p> <p>HLA の異なる 2 種類(Responder 側と放射線照射施行した Stimulator 側)のヒト PBMC を単純に NSG マウスへ投与するだけでは，抗 HLA 抗体産生は全く認められなかった。マウスの脾臓で，ヒトの免疫担当細胞の相互間作用が不十分であったこと，マウスの体内にあるマウスの抗体産生促進因子は，ヒトの免疫担当細胞に不応性であることなどが，要因と考えられた。そこで，ヒトの抗体産生促進因子による直接的な刺激を加えるため，T 細胞と B 細胞の間の CD40-CD40ligand の相互作用に着目した。ヒトの CD40ligand(h-CD40L)を発現しているマウス繊維芽細胞上で，HLA の異なる 2 種類(Responder 側と放射線照射施行した Stimulator 側)のヒト PBMC を <i>in vitro</i> 下で，3 日間混合培養し，3 日後に全ての細胞を回収して，NSG マウスへ投与した(day 0)。翌日に同じ Stimulator の PBMC(放射線照射施行)で，NSG マウスに免疫を行い(day 1)，day 7,14,21,28,35 にマウスから採血し，human-total IgG を計測した。Human-total IgG が最高値であった血清で，抗 HLA 抗体価を計測したところ，Stimulator 側の HLA と異なる非特異的な抗 HLA 抗体が多く産生され，抗原特異的な抗 HLA 抗体の産生はほとんど認められなかった。</p> <p><i>In vitro</i> での培養条件に対して，h-CD40L を発現しているマウス繊維芽細胞へ，ヒトの B 細胞活性化因子(h-BAFF)の遺伝子移入を行い，同様の実験を行ったが，Stimulator 側の HLA と異なる抗原非特異的な抗 HLA 抗体が多く産生される同様の傾向であった。また，抗体産生促進因子ではなく，抗体産生抑制因子にも着目し，Responder 側のヒト PBMC から制御性 T 細胞(Treg)を除去してから，同様の実験を行ったが，やはり同様の傾向の結果であった。これらの結果より，著者らが作製したヒト化マウスモデルでは，抗原に直接しているにも関わらず，抗原非特異的な抗体ばかり産生された結果であった。</p> <p>以上の結果から，本論文は，著者らの作製した「抗 HLA 抗体産生ヒト化マウスモデル」</p>			

は、BAFF-BAFF 受容体シグナル伝達や T-reg の調節機構とは独立した抗原特異的 B 細胞のみを寛容に誘導できる *in vivo* モデルとして有用である可能性を報告した。

よって、審査委員会委員全員は、本論文が柳川泉一郎に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。