

Title	非病原性抗酸菌 <i>Gordona aurantiaca</i> 細胞壁由来のミコール酸含有糖脂質の免疫増強機構に関する研究
Author(s)	大坪, 義和
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37543">https://hdl.handle.net/11094/37543</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	おお	つば	よし	かず
	大	坪	義	和
学位の種類	薬	学	博	士
学位記番号	第	9454	号	
学位授与の日付	平成	3年	1月	14日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	非病原性抗酸菌 <u>Gordona aurantiaca</u> 細胞壁由来のミコール酸含有糖脂質の免疫増強機構に関する研究			
論文審査委員	(主査)	教授 近藤 雅臣		
	(副査)	教授 西原 力	教授 三村 務	教授 三浦 喜温

### 論文内容の要旨

ミコール酸は Mycobacterium, Nocardia, Rhodococcus 等の抗酸菌の細胞壁にみられる構成成分であり、菌種により大きな量的差異がみられ、分類学上有用な指標となっているばかりでなく、異なった生理学的活性を有することが報告されている。ヒトの喀痰中より分離された Gordona aurantiaca (G. aurantiaca) は、他の Gordona 属菌よりも抗酸性が強く、ミコール酸においても Mycobacterium, Nocardia 等の他の抗酸菌とは大きく異なった特徴を有し、主な成分は、これまで報告のなかった trehalose-2,3,6'-trimycolate(TTM)であることが報告された。このミコール酸含有糖脂質のマウスへの投与は、肺、肝、脾に著明な肉芽腫形成を惹起し、形成された肉芽腫は結核菌感染による類上皮細胞性肉芽腫に組織学的に極めて類似した形態像を示すことが報告された。また同時に、Yersinia 感染に対する著明な抵抗性を示すことが報告されており、宿主の免疫能賦活が示唆され、Mycobacterium 等で知られる cord factor と同様の免疫活性を有する可能性が考えられた。

著者は、まず G. aurantiaca の細胞壁より抽出、精製したミコール酸含有糖脂質：TTM を多重層リポソームに封入した TTM リポソームのマウスへの投与が、生体内の免疫監視機構のひとつとされるキラー活性の誘導に影響を与えうるかを検討し、ついで、マクロファージの活性化に焦点をあて、免疫機構に重要な役割を担っているマクロファージに、機能面と代謝面の両観点から検討を加えた。さらに、in vitro 培養系における免疫増強作用についても検討した。

その結果、TTM リポソームを投与することにより、マウス脾細胞のキラー活性増強を認め、TTM リポソームが免疫増強効果を有することを認めた。キラー活性の増強は、抗原に特異的なキラー T 細胞活性のみならず、非特異的なナチュラルキラー (NK) 活性や、抗体依存性細胞傷害活性 (ADCC) においても

認められた。TTMリボソームは、syngeneic な腫瘍細胞に対しての増強のみならず、allogeneic な腫瘍細胞に対する増強能をも示したことから、生体内でヘルパー T細胞からのT細胞増殖因子であるインターロイキン2 (IL-2) 産生の増加あるいは、キラーT細胞のIL-2 に対する応答性が高まっていることが示唆されたが、刺激細胞に関係なく増強されたことから、前者の可能性が高いと考えられた。また、TTMリボソーム投与により、抗原に非特異的なNK活性の増強及びADCC活性の増強を認めた。NK活性やADCC活性を有する細胞群は、IL-2により、著しくその活性が増強されるとされており、TTMリボソーム投与によるT系細胞の一連のキラー活性増強は、その増強機構としてIL-2等のサイトカインの関与が示唆された。

さらに、TTMリボソーム投与により、マウス腹腔マクロファージの活性化を認めた。すなわち、投与を受けたマウスのマクロファージは同系の腫瘍細胞に対し著明な細胞傷害活性を示した。また、活性化を受けたマクロファージからライソゾーム酵素の産生、放出を確認した。マクロファージは、非特異的に抗腫瘍作用を発揮することができるとされており、そのメカニズムには活性酸素類やライソゾーム酵素あるいは腫瘍壊死因子(TNF)やインターロイキン-1などのモノカインが知られている。今回、抗腫瘍活性の指標のひとつとされる細胞傷害活性を測定することにより、TTMリボソーム投与マウスの腹腔マクロファージが*in vitro* で同系の腫瘍細胞に対して著明な細胞傷害活性を有することを認めた。本活性は投与2週間後においても保持されており、同時に用量依存的な増強作用も認められた。また本活性は、TNFに対して抵抗性を示す腫瘍細胞において認められたことから、今回の細胞傷害活性はすくなくともTNF以外の機構によることが示唆された。さらに、TTMリボソーム投与を受けたマクロファージはその活性化の指標とされるライソゾーム酵素の細胞外への放出を認めたことから、TTMリボソームが、抗腫瘍性という機能面での活性化を代謝面においても裏付けされたことが示唆された。

TTMリボソームは、*in vivo* のみならず、*in vitro* 培養系においても、免疫増強能を有することを確認した。すなわち、TTMリボソームはマウス脾細胞に対する細胞増殖作用、リンパ球混合培養反応(MLR)の増強能、及び一次アロ刺激に対するキラーT細胞活性の増強能を有することを認めた。TTMリボソームは、単独でマウス脾細胞に細胞増殖作用を示したが、マクロファージを除去した細胞群やT細胞を除去した細胞群においては、細胞増殖作用を認めなかった。このことは、TTMリボソームがLPSに代表されるB細胞に対する増殖作用を有するのではなく、T細胞に関与した増殖作用を有することを示し、さらに本作用には、マクロファージの存在が必須であることが明らかになった。また、TTMリボソームは、用量依存的にリンパ球混合培養反応の増強作用を示した。すなわち、抗原としてのアロ脾細胞の刺激による特異的反応性T細胞の増殖は、TTMリボソーム存在下において増強された。さらに、脾細胞によるアロ反応性キラーT細胞の*in vitro* における誘導も、TTMリボソームは増強したことから、TTMリボソームは、直接T細胞を活性化するのではなく、TTMリボソームにより、T細胞の増殖、分化に寄与するIL-2等のサイトカインが培養液中に分泌され、アロ細胞による刺激を受けたT細胞に利用された可能性が示唆された。

以上の結果から、TTMリボソームはマウスの免疫系に対し増強効果を有し、その発現にはマクロファージが重要な役割を担っていることが示唆された。また、TTMリボソーム投与により、キラー活性にみ

られる一連の免疫増強作用を示すことから、その作用への各種のサイトカインの関与が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

非病原性抗酸菌 Gordona aurantiaca 細胞壁より得られたミコール酸含有糖脂質を多重層リボゾーム (TTMリボゾーム) に封入しマウスに投与することにより脾細胞のキラー活性が増強されることを認めた。このことからTTMリボゾームが生体の免疫増強作用を有することがわかった。また、その発現にはマクロファージが重要な役割を担っていることを明らかにした。これらの知見はミコール酸含有糖脂質の免疫増強機構を経由しての腫瘍細胞傷害作用に関する基礎的知見を得たものとして学位授与に値するものと判定した。