



| | |
|--------------|---|
| Title | 好熱菌 <i>Bacillus stearothermophilus</i> 菌体由来の免疫抑制成分の研究 |
| Author(s) | 田中, 啓詞 |
| Citation | 大阪大学, 1995, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/39108 |
| 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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|---------------|--|
| 氏 名 | たなか けいし 田 中 啓 詞 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (薬 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 1 8 4 3 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 7 年 3 月 23 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科応用薬学専攻 |
| 学 位 論 文 名 | 好熱菌 <i>Bacillus stearothermophilus</i> 菌体由来の免疫抑制成分の研究 |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 三 村 務 (副査) 教 授 真 弓 忠 範 教 授 馬 場 明 道 教 授 前 田 正 知 |

論 文 内 容 の 要 旨

近年、免疫寛容の誘導あるいは免疫応答の抑制を必要とする移植免疫や自己免疫疾患の人為的制御が注目されている。移植に伴う拒絶反応は様々な免疫担当細胞が関与する非常に複雑な反応である。ドナーからの遊離抗原は、マクロファージ (Mφ) をはじめとした抗原提示細胞 (APCs) によってヘルパー T 細胞 (Th) に提示される。活性化した Th は様々な cytokine を放出して直接ドナーを傷害する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の働きを補助すると共に、一方では、サプレッサー T 細胞 (Ts) を介した制御系に対しても作用を及ぼしている。拒絶反応を抑制する方法として APCs, Th あるいは Ts の機能制御等が考えられる。現在 Th の interleukin-2 転写阻害を機序に持つ免疫抑制剤 (FK-506, cyclosporin A) が臨床応用されているが、移植における薬物療法の確立には新たな作用点を有する多種の薬剤の開発が望まれている。

このような観点に立って、本研究では新しい免疫抑制成分の開発を目的として、好熱菌 *Bacillus stearothermophilus* 菌体自己消化物について、抽出・精製法、化学構造、ならびに免疫担当細胞に対する作用機序について検討した。

極限条件下に生育する微生物に新しい免疫抑制成分を求め、好熱菌を中心に産生物および菌体成分のスクリーニングを行った結果、*B. stearothermophilus* 菌体自己消化物から脂質性の免疫抑制画分 Fr.L を得た。Fr.L は臓器移植の *in vitro* モデル実験系である混合リンパ球反応 (MLR)、あるいは CTL 誘導能を細胞毒性を示さない濃度で抑制した。Fr.L は免疫応答に対して複数の作用点を有すると考えられた。一つは APCs の Th に対する抗原提示の過程において重要な役割を果たす Ia 抗原の発現能に対する抑制。もう一つは免疫系に対して抑制的に働く Ts の誘導能促進活性である。これら Fr.L の有する多様な作用は、Fr.L が複数の異なる活性成分から構成されていることによると考えられた。そこで、Fr.L の活性本体を探索した結果、抗原提示能抑制成分としてイソ脂肪酸 (C₁₅₀-C₁₇₀) 含有 PE (Fr.L-A)、Ts 誘導能促進成分としてイソ脂肪酸 (C₁₅₀-C₁₇₀) 含有 PG (Fr.L-C) を同定した。

Fr.L は脾臓由来の APCs を用いた実験系で抗原提示能を抑制したが、これは protease の様なタンパク分解酵素を阻害することにより、抗原のプロセッシング過程を阻害するのではなく、APCs の Ia 抗原発現能を抑制することによって考えられる。さらに腹腔 Mφ を用いて、Mφ 産生因子に対する影響を検討した結果、Fr.L-A は arachidonic acid, prostaglandin E₂ (PGE₂), nitric oxide (NO) および tumor necrosis factor (TNF) の産生を増強した。Fr.L-A は PGE₂, NO, TNF 等によって構成される免疫応答のフィードバックループに対して作用し、PGE₂ と NO 合成経路の両者を励起することにより、フィードバック機構を制御し、結果として抗原提示能を抑制すると考えられ

る。

サプレッサー Mφ もまた PGE₂, NO をメディエーターとしてリンパ球増殖を抑制するが, Fr.L-A はサプレッサー Mφ を用いた実験系においても, サプレッサー Mφ の有する抑制活性を増強し, この抑制活性の増強は PGE₂ と NO の両者をメディエーターとしていることが明らかとなった。すなわち, サプレッサー Mφ を用いた実験系からも, Fr.L-A が PGE₂ と NO の両者をメディエーターとして必要とすることが明らかとなった。

Fr.L のもう一つの活性本体である Fr.L-C は Concanavalin A (Con A) 活性化 Ts の誘導を促進した。さらに, Ts 誘導能実験において Ts 誘導能促進系から Thy-1.2 あるいは CD 8 陽性細胞を除去すると, Fr.L-C による抑制活性が消失したことから, Fr.L-C は CD 8 陽性 Ts の誘導を促進することにより抑制活性を発現することが明らかとなった。またアロ抗原を認識する MLR を用いた Ts 誘導能実験から, Fr.L-C は主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) によって拘束を受けない, 抗原非特異的な Ts の誘導を促進することが明らかとなった。Fr.L-C は MLR に対しても直接的に抑制活性を示したが, この抑制活性も抗原非特異的な Ts の誘導を促進することによると考えられる。Mφ が産生する PGE₂ は Ts を誘導する作用があることが報告されているが, Fr.L-C は脾細胞の Con A 刺激培養上清中の PGE₂ 量を上昇した。さらに, この作用は indomethacin により阻害されることから, Fr.L-C は少なくとも PGE₂ 合成経路に作用して PGE₂ を介することにより Ts の誘導を促進すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は, 新規免疫抑制物質の開発を目的として, 極限条件下に生育する好熱菌を中心にスクリーニングを行い, *B.stearothermophilus* 菌体自己消化物中に二種の免疫抑制成分が存在することを見出し, その化学構造と免疫担当細胞に対する作用機序について検討したもので以下の知見を得ている。

- (1) 活性成分の一つはイソ脂肪酸 (C₁₅₀~C₁₇₀) 含有ホスファチジルエタノールアミン (Fr.L-A) であり, 抗原提示細胞の抗原提示能を抑制し, その作用機序としては PGE₂ と NO の合成経路のいずれもを活性化することを認めた。
- (2) 他の活性成分はイソ脂肪酸 (C₁₅₀~C₁₇₀) 含有ホスファチジルグリセライド (Fr.L-C) で, MHC の拘束を受けず, 抗原非特異的な Ts (サプレッサー T 細胞) の誘導を促進する。その作用機序として, やはり PGE₂ を介していることが明らかとなった。

以上の結果は医薬品開発の基礎研究に大きく貢献するものであり, 博士論文として価値あるものと認める。