



Title	腸管上皮細胞間リンパ球による粘膜免疫応答の制御機構
Author(s)	藤橋, 浩太郎
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39245
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	藤 橋 浩 太 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 5 9 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 1 1 月 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	腸管上皮細胞間リンパ球による粘膜免疫応答の制御機構
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 浜田 茂幸 (副査) 教 授 鈴木不二男 助教授 小川 祐三 助教授 森崎市治郎

論 文 内 容 の 要 旨

研究目的

マウス小腸の上皮細胞間リンパ球 (IEL) の約90%をT細胞が占めており、その半数はT細胞レセプター (TCR) として $\alpha\beta$ 鎖を、残り半数は $\gamma\delta$ 鎖を発現している。IELの生物学的機能については未だ不明な部分が多いが、腸管粘膜面の生態防御機構を司る粘膜免疫の主たるエフェクター細胞の1つと考えられる。本研究は $\alpha\beta$ TCR⁺ IEL (以下 $\alpha\beta$ IEL) と $\gamma\delta$ TCR⁺ IEL (以下 $\gamma\delta$ IEL) の粘膜免疫機構における役割について、細胞及び分子レベルでの解析を試みたものである。

研究方法

免疫方法とIELの調製：実験動物として8-12週齢のC3H/HeNマウスを用いた。同マウスに対し、ヒツジ赤血球 (SRBC) の浮遊液を用いて、3日間連続経口免疫し、免疫寛容 (OT) の誘導のためにはSRBCを28日間連続経口投与した。1週間後に、マウスの腸管を摘出洗浄し、機械的振とうと密度勾配遠心法によりIELを分離し、蛍光標識抗体で染色後、フローサイメトリーを用いて $\alpha\beta$ IEL と $\gamma\delta$ IEL に分離し、前者はさらにCD4とCD8の発現型の組み合わせにより、いくつかの亜群に分別した。

粘膜免疫応答維持機能の測定：SRBCを3日間連続経口投与したマウスより $\alpha\beta$ IEL または $\gamma\delta$ IEL を分離し、各IELをOT成立マウスに対し静脈注射により移入後、SRBCにて再免疫した。4日後同マウスの脾臓を摘出し、SRBC特異抗体産生細胞数をブランク法により測定した。

T細胞ヘルパー活性の*in vitro* 測定：経口免疫マウスより分離した各 $\alpha\beta$ IEL 群を非免疫マウスの脾臓B細胞、抗原提示細胞及びSRBCとともに5日間培養し、SRBC特異抗体産生細胞数をブランク法により測定した。

サイトカインのアッセイ： $\alpha\beta$ IEL, $\gamma\delta$ IEL 細胞によって生成されるサイトカイン産出細胞数をELISPOT法を用いて算出した。SRBC経口免疫マウスの各 $\alpha\beta$ IEL 群は抗原提示細胞ならびにSRBCと共に3日間培養し、ELISPOT法及び、RT-PCR法によりこれらの細胞におけるmRNAの発現について調べた。

結果と考察

$\alpha\beta$ IEL はフローサイトメトリーにより, $CD4^+/CD8^-$ 群, $CD4^+/CD8^+$ 群及び $CD4^-/CD8^+$ 群のサブセットに分類された。これらの T 細胞群のサイトカイン産生パターンを ELISPOT 法で解析したところ, 分離直後の $CD4^+/CD8^-$ IEL では IL-5, ついで IL-4, IL-6 を産生する Th2 型細胞がみられた。 $CD4^+/CD8^-$ IEL では IL-5, IL-6 を産生する Th2 型細胞が存在したが, その割合は $CD4^+/CD8^-$ 細胞群に比べて小さかった。また, いずれの IEL 群でも IFN- γ 産生性の Th1 型細胞が検出されたが, IL-2 産生性細胞は認められなかった。 $CD4^-/CD8^+$ 群では $CD4^+/CD8^+$ と類似したサイトカイン産生細胞数の出現が示された。これらの所見は RNA を用いた RT-PCR 法によっても確認された。抗 CD3 抗体を用いた刺激により, 上記の 3 つのサブセットは分離直後に産生していたサイトカインに加えて, 新たに IL-2 及び IL-4 も産生することが示された。パイエル板の B 細胞に $\alpha\beta$ IEL の 3 つのそれぞれのサブセットを加え培養したところ, $CD4^+$ T 細胞群添加系においては抗体産生細胞数の顕著な増加が誘発された。

SRBC を経口免疫したマウスの $\alpha\beta$ IEL は $CD4^+$ T 細胞が B 細胞に対して, SRBC に特異的な抗体産生を促すヘルパー活性を示し, かつ MHC クラス II による拘束を受けていることが明らかにされた。これら $CD4^+ \cdot \alpha\beta$ IEL は IL-4 と IL-5 を選択的に産生していることが ELISPOT 法や RT-PCR 法により示された。

SRBC の長期投与により OT の成立したマウスに SRBC を至適回数経口免疫したマウスの $\gamma\delta$ IEL を移入することにより, 寛容が解除された。これらの機能を有する $\gamma\delta$ IEL は IFN- γ と IL-5 の両方を同時に生成している細胞が半数以上存在することが明らかになった。本研究の結果, $\alpha\beta$ IEL はサイトカインの産生と適当な細胞間相互の接触により, 粘膜免疫において B 細胞を形質細胞へと導くヘルパー機能を発揮するのに対し, $\gamma\delta$ IEL は抗原に対して全身系が不応答な状態においても粘膜免疫応答を維持するのに重要な役割を果たしていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は, 粘膜免疫における主要なエフェクター細胞の 1 つであるマウス腸管上皮細胞間リンパ球 (IEL) の T 細胞サブセットの分布と, 同細胞依存性抗原による経口免疫後の生物学的機能について検討したものである。その結果, $\alpha\beta$ T 細胞レセプター陽性 (TCR $^+$) の IEL は Th2 型細胞に特徴的なサイトカインの産生を伴うヘルパー機能を示し, MHC クラス II による拘束を受けていること, また $\gamma\delta$ TCR $^+$ IEL は経口免疫寛容を解除する活性を有することを明らかにした。

これらの知見は, 消化管における免疫応答機構の解明に大きく資するものであり, 博士 (歯学) の学位に値するものと認められた。