



Title	Orally Administered Cholera Toxin Prevents Murine Intestinal T Cells From Staphylococcal Enterotoxin B - Induced Anergy
Author(s)	飯島, 英樹
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41714
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 >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	飯 島 英 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 4 8 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 11 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	Orally Administered Cholera Toxin Prevents Murine Intestinal T Cells From Staphylococcal Enterotoxin B - Induced Anergy (SEB により誘導された消化管粘膜 T 細胞アナジーのコレラトキシン経口投与による解除)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀 正二 (副査) 教 授 清野 宏 教 授 本田 武司

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

消化管粘膜局所では経口的に侵入する様々な外来抗原に対する抗原特異的な分泌型 IgA が第一線の防御機構を担っている。粘膜を介した病原微生物の感染に対して粘膜面での抗体産生を高めることにより感染防御を行う粘膜ワクチンの開発が期待されている。コレラトキシン (CT) を経口的に抗原と同時に投与すると粘膜面において高い抗原特異的 IgA 抗体産生が誘導されるため粘膜ワクチンへのアジュバントとしての応用が期待されているが、CT の作用機序について十分に解明されていない。食中毒の原因となる黄色ブドウ球菌の外毒素 (staphylococcal enterotoxin B ; SEB) はスーパー抗原として知られ *in vitro* あるいは全身免疫に用いると主に $V\beta 8^+$ T 細胞と一括して反応することが明らかになっているが、粘膜免疫系に与える影響は不明である。本研究では経口的に投与された SEB の粘膜免疫系への影響ならびに粘膜アジュバントである CT を SEB とともに経口免疫したときの粘膜免疫系への影響を解析し、全身免疫系と比較、検討した。

【方法ならびに成績】

6～10週齢の C 3 H / HeN マウスに対して SEB ($100\mu\text{g}$) 単独あるいは SEB ($100\mu\text{g}$) と CT ($15\mu\text{g}$) の併用、対照として PBS を週 1 回、計 3 回経口免疫または全身免疫 (腹腔内投与) し、SEB および CT による経口および全身免疫後の消化管分泌液 (糞便) 中、血清中の SEB 特異的抗体価を ELISA 法にて調べた。

SEB 単独の経口免疫では消化管分泌液中に SEB 特異的抗体価の上昇は認められなかった。一方、SEB とともに CT を経口免疫すると SEB 特異的抗体価は上昇した。SEB 単独の全身免疫でも消化管分泌液中の SEB 特異的抗体価の上昇は認められず、SEB と CT の全身免疫により軽度上昇した。このことより CT は主に粘膜免疫系において抗体産生を強く促す分子であることが示唆される。

次に経口および全身免疫されたマウスより粘膜免疫系の誘導リンパ組織である小腸パイエル板および全身免疫系のリンパ組織である脾臓の $CD4^+$ T 細胞を分離し、抗原提示細胞の存在下で SEB により再刺激し、増殖活性をトリチュム・チミジンの取り込みにより調べた。SEB の経口免疫を行ったマウスのパイエル板の $CD4^+$ T 細胞は SEB に対する増殖活性が高度に低下していたが、CT を同時に経口免疫することにより増殖活性は維持された。SEB の経口、全身免疫でも脾臓 $CD4^+$ T 細胞の増殖反応の抑制が認められたが、CT 併用による変化はわずかであった。同様の培養

系にアナジーを解除する IL-2 を加えると SEB の経口および全身単独投与で認められたパイエル板 CD4⁺T 細胞の増殖反応は回復した。すなわち、SEB の経口免疫により T 細胞にアナジーが誘導され、CT の併用経口免疫により解除されることが明らかになった。

経口および全身免疫したマウスの脾臓およびパイエル板の CD4⁺Vβ8⁺T 細胞の割合をフローサイトメトリーを用いて解析すると、パイエル板の CD4⁺Vβ8⁺T 細胞の割合は SEB の単独経口免疫により有意に減少し、CT の併用免疫でも有意な減少を認めた。SEB の全身免疫では脾臓の CD4⁺Vβ8⁺T 細胞は減少した。従って、SEB 単独の経口免疫による消化管分泌液中の抗体価の減少は CD4⁺Vβ8⁺T 細胞のクローン除去が 1 つの原因であることが示唆された。さらに CT は SEB によるクローン除去には影響を与えず、もっぱらアナジーの解除を通じて粘膜免疫応答を増強することが示唆された。

RT-PCR 法にてパイエル板の CD4⁺Vβ8⁺T 細胞が産生するサイトカインを解析すると SEB 単独の経口免疫により Th1, Th2 型サイトカインとも PBS を経口免疫したコントロール群に比して減少していたが、CT の併用により Th1, Th2 型サイトカインとも増加を認めた。一方、SEB 単独の全身免疫でもサイトカイン産生の低下を認めたが、SEB と CT の併用による全身免疫ではサイトカイン産生の回復は認められなかった。このことより CT の併用経口免疫により抗体産生系に必要なサイトカイン産生が促されることが明らかになった。また、CT に対する CD4⁺Vβ8⁺T 細胞の反応性が粘膜免疫系と全身免疫系で異なることが示唆された。

【総括】

経口的に免疫された SEB はクローン除去とアナジーという機序に基づいて T 細胞を不活性化し、粘膜免疫系抗体産生を抑制することが明らかとなった。一方、CT は SEB により誘導される粘膜免疫系 T 細胞アナジーを解除しサイトカイン産生を促す免疫強化剤であることが解明された。本研究で示した CT, SEB による T 細胞の制御は、今後粘膜ワクチン開発へ向けて粘膜免疫機構を解析する上で有用なモデルとなる。

論文審査の結果の要旨

本研究論文は粘膜アジュバントであるコレラトキシンの消化管粘膜における抗体産生および T 細胞の動向に与える影響をスーパー抗原である SEB を用いることにより詳細に解析したものである。まず、スーパー抗原を単独で消化管に投与した場合の免疫応答を解析することは世界的にも新しい試みであり、的確かつ新しい免疫学的手法を用いて粘膜免疫系抗原特異的 T 細胞にアナジー化あるいはクローン除去が起こり抗体産生不能状態となるという新知見を導いた。また、コレラトキシンについては従来より経験的に粘膜免疫系で抗体産生を促すアジュバントとして用いられていたもののその機能についてはほとんど不明であったが、本研究において抗原の経口免疫で引き起こされた T 細胞のアナジー化を解除し、Th1 型、Th2 型のサイトカインを強く誘導し、抗体産生を促す免疫強化剤であるという明快な実験結果を導き、従来不明であったコレラトキシンの重要な機能の一部を解明したという点で非常に意義深い。

経口的に侵入してくる病原微生物に対して体内に侵入する前に粘膜面の防御機構を高めることにより感染を予防する粘膜ワクチンは次世代のワクチンとして期待されており、本研究結果はコレラトキシンやスーパー抗原を用いて全身免疫系と異なった特殊な粘膜免疫系の機構を明らかにし、粘膜免疫系の発展に寄与したのみならず、今後の粘膜ワクチンの開発に向けた重要な情報を与えるものであり学位の授与に値すると考えられる。