

細菌性スーパー抗原経口投与による全身・消化管
免疫応答の調節と臨床応用

09670542

平成9年度～平成11年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）研究成果報告書

平成12年3月

研究代表者 辻川 知之
（滋賀医科大学 医学部 助手）

研究組織

平成9年度～平成10年度

研究代表者：藤山 佳秀（滋賀医科大学医学部助教授）

平成11年度

研究代表者：辻川 知之（滋賀医科大学医学部助手）

研究経費

平成 9年度	千円
平成10年度	千円
平成11年度	千円
計	千円

研究発表

(1) 学会誌等 (なし)

(2) 口頭発表

1. 内原啓次、作本仁志、藤山佳秀、馬場忠雄、シンポジウム『粘膜免疫とリンパ系』経口免疫寛容とリンパ系 第22回リンパ学会総会 平成10年6月12日
2. 竹中克彦、藤山佳秀 他、TCR α 鎖欠損マウスにデキストラン硫酸を投与した実験的大腸炎モデルにおけるSEB経口投与の効果、第41回日本消化器病学会大会、平成11年10月31日

(3) 出版物

1. 藤山佳秀、安藤 朗、第1章 病態生理の基礎的・臨床的研究の進歩 免疫不全による消化管病変－原発性、続発性を含めて 別冊 医学のあゆみ 消化管疾患－state of arts (Ver. 2) I 胃・腸 36-38, 1998.

滋賀医科大学附属図書館



1.999018582

研究成果報告書

背景と目的

腸管粘膜免疫は、生体の第一線免疫防御（分泌型液生免疫）を担うとともに全身性免疫の制御（経口寛容）を営むために、極めて巧妙な免疫機構のネットワークにより構築されている。我々は、この腸管粘膜免疫に関し、分泌型 IgA と腸内細菌叢(IgA protease)、免疫担当細胞としての腸上皮細胞、IBD における粘膜免疫病態と腸内細菌叢などをテーマとして継続的に研究を行ってきた。さらに、経口寛容と腸内細菌叢の関わりを検討する中で、細菌性スーパー抗原である staphylococcal enterotoxin B (SEB)をマウスに微量連日経口投与 ($\geq 0.2 \mu\text{g/day}$) することにより、末梢性 T 細胞の T cell receptor V β region (V β 8)に規定された clonal deletion と SEB に対する不応答性が誘導されること、これをコラーゲン誘導実験的関節炎モデルに応用することにより、その発症抑制と治療効果が得られることを初めて明らかにし、経口寛容誘導による自己免疫疾患の新たな方法論を提唱している。一方、非特異的炎症性腸疾患(IBD)についてはデキストラン硫酸惹起マウス潰瘍性大腸炎モデルを用いて検討し、発症過程における大腸粘膜局所、腸間膜リンパ節、脾の免疫担当細胞のサイトカイン・ユージェージ、T細胞V β レパートリーを解析し、大腸局所粘膜におけるTh2からTh1タイプへのサイトカイン産生のスイッチが潰瘍形成を伴う大腸炎成立に関与することを見出している。今回我々は、細菌性スーパー抗原(SEB)経口投与による実験的自己免疫疾患の発症抑制・治療効果がV β 8⁺T細胞の anergy/deletion によるのか、抑制性サイトカイン産生細胞の誘導によるのかを明らかにするために、コラーゲン誘導実験的関節炎マウスモデルを用い、SEB 経口投与により誘導される脾臓、腸間膜リンパ節、パイエル板T細胞のSEBとcollagenに対する応答の特異性をサイトカイン mRNA 発現パターンより解析する。さらに、IBD への臨床応用の可能性を明らかにするために、V β 8⁺T細胞を含むポリクローナルなT細胞の活性化を認めるデキストラン硫酸惹起マウス潰瘍性大腸炎、および発症にCD4⁺V β 8(or15)^{dim}T細胞の関与が示唆されているIBD自然発症TCR α 鎖ノックアウトマウスを用いて基礎的に検討した。

実験方法と結果

1. コラーゲン誘導実験的関節炎マウスモデル (CIA) に対する SEB 経口投与時のサイトカイン動態

コラーゲンブースター投与一週間まえより SEB を経口投与し、ブースター直後、1, 2 週後にパイエル板および脾 T 細胞を分離し、APC 共存下 SEB・コラーゲン添加培養 15、39 時間後に TCR-V β 8T 細胞を FACS にて単離し、RT-PCR にて IL2, IL4, IL5, IL6, IL10, IFN γ , TGF β の発現を解析した。その結果、脾 T 細胞は SEB 投与一週後で既に TGF β 発現が誘導され、IL2, IFN γ 発現時相の遅延、IL4 発現時相の短縮がみられた。すなわち、SEB 経口投与の CIA に対する発症抑制・治療効果は、抑制性サイトカイン産生 TCR-V β 8T 細胞の誘導と Th1 から Th2 への immune deviation が関与すると考えられた。

2. DSS 大腸炎に対する SEB 経口投与の効果

DSS 投与前に SEB を経口投与し発症抑制効果について検討した。SEB 経口投与は DSS 誘導実験的大腸炎の病変大腸長、内視鏡的重症度、病理組織学的スコアの軽減効果を認めたが、発症抑制には至らなかった。これは、SEB 経口投与で誘導される脾 T 細胞のアナジーが DSS 長期投与で解除されることが要因と考えられた。

3. TCR α 鎖欠損マウスの DSS 大腸炎における SEB 経口投与の効果

6 週齢の TCR α 鎖欠損マウスに 2% DSS を一週間投与して大腸炎を作成したマウスで、さらに SEB を経口投与すると大腸粘膜傷害が軽減し、生存率も改善した。血清 IgM は、DSS 大腸炎群では増加していたが、SEB 投与により減少する傾向がみられた。また、SEB 投与と非投与群では CD4⁺TCRV β ^{dim} T 細胞および CD4⁺TCRV β ⁸⁺ 細胞分画に差はみられなかった。

4. TCR α 鎖欠損マウスの自然発症大腸炎における SEB 投与の効果

TCR α 鎖欠損マウスで 18 週齢の大腸炎自然発症前に SEB を経口投与したが、大腸炎は抑制されなかった。したがって、局所の炎症が成立し持続している状況下では、SEB 経口投与による T 細胞の不応答性を誘導することは困難であると考えられた。