

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 植 田 祥 啓

本研究は抗原の経口投与によってアポトーシスが起こることに注目して経口免疫寛容の誘導部位について検討した。さらにアポトーシス異常マウスにおける経口免疫寛容の誘導を評価することをあわせて経口免疫寛容における免疫細胞のアポトーシスの役割を検討することを目的とした。本論文は緒言、3章、総合討論からなる。

研究の背景を序論で述べた後、第1章では経口抗原によってどの部位でCD4⁺ T細胞のアポトーシスが起こるのかを検討するためにオボアルブミン (OVA) 特異的T細胞レセプター遺伝子導入マウスに卵白食 (抗原を含む) を摂取させ免疫器官を摘出して、CD4⁺ T細胞数の変化とCD4⁺ T細胞のアポトーシスを解析した結果を述べている。その結果、胸腺を含め腸管免疫系以外の免疫器官でCD4⁺ T細胞のアポトーシスと細胞数の低下が観察された。一方、腸管免疫系であるパイエル板はアポトーシスが観察されたものの、細胞数が低下しなかった。また腸間膜リンパ節では顕著なアポトーシスが誘導されず、細胞数の増加が観察された。したがって経口抗原によって腸管免疫系よりもそれ以外の部位でCD4⁺ T細胞のアポトーシスと細胞数の低下が誘導されることが示唆された。そこで、卵白食摂取により腸管免疫系と全身免疫系でCD4⁺ T細胞の応答低下が誘導されているかどうかを調べた。その結果、卵白食マウス由来の腸間膜リンパ節CD4⁺ T細胞はカゼイン食群 (対照群) に比べて増殖応答が低下しなかった (すなわち寛容が誘導されなかった) のに対して脾臓のCD4⁺ T細胞はカゼイン食群に比べて卵白食群の増殖応答が低下した (寛容が誘導された)。

第2章では第1章の結果から抗原の経口投与によって腸管免疫系ではなく非腸管免疫系である脾臓でT細胞の免疫寛容が誘導される可能性が考えられ、これが免疫応答の誘導に重要な抗原提示細胞の違いによるものであるかどうかを確かめるためにカゼイン食群あるいは卵白食群の腸間膜リンパ節・脾臓細胞を抗原提示細胞として未感作CD4⁺ T細胞を抗原とともに培養して誘導したT細胞の応答を解析した。カゼイン食群・卵白食群であるかに拘わらず腸間膜リンパ節抗原提示細胞で誘導したT細胞は強い増殖応答とサイトカイン応答を示した。カゼイン食群の脾臓抗原提示細胞で誘導したT細胞は増殖応答が誘導されたが、腸間膜リンパ節の抗原提示細胞で誘導したT細胞に比べて低いサイトカイン応答を示した。さらに卵白食群由来の脾臓抗原提示細胞で誘導したT細胞は顕著に増殖とサイトカイン応答が抑制された。したがって、寛容を誘導したマウスの脾臓を抗原提示細胞として培養することによってT細胞の応答低下を誘導できることが明らかとなった。また、腸管膜リンパ節の抗原提示細胞は経口抗原の影響を受けずに脾臓よりも強い免疫応答を誘導することが示された。

第3章では経口免疫寛容の誘導におけるアポトーシスの役割を明らかにするために、2種類のアポトーシス遺伝子に異常のあるマウスを用いて経口免疫寛容の誘導に与える影響を観察した。まず *Fas* 遺伝子に変異のある *lpr* マウスにおいて経口免疫寛容の誘導を検討した。その結果、*lpr* マウスにおいては抗体応答・リンパ節増殖応答ともに同系正常マウスと同様に对照群と比べ寛容群で経口免疫寛容による応答の低下が観察された。したがって、*Fas* 遺伝子は経口免疫寛容の誘導に必須ではないことが証明された。次に *p53* 遺伝子欠損 (*p53KO*) マウスにおける経口免疫寛容の誘導を検討した。その結果、このマウスにおいて抗体産生応答の低下が部分的に解除されることが観察された。そこで *p53KO*-OVA 特異的 T 細胞トランスジェニックマウスを作成し、このマウスに 9% OVA 食を自由摂取させて CD4⁺ T 細胞のアポトーシスを観察した。その結果、*p53KO*-OVA 特異的 TCR トランスジェニックマウスにおいても正常に CD4⁺ T 細胞のアポトーシスが誘導されることがわかった。さらに、*p53KO* マウスにカゼイン食・卵白食を摂取させ、TNP 結合 OVA で腹腔免疫し、血清中の OVA 特異的抗体価と TNP 特異的抗体価を測定・比較した。その結果、*p53KO* マウスにおいても経口免疫寛容による TNP 特異的抗体価は同系正常マウスと同様に応答の低下が誘導された。TNP 特異的抗体価は OVA 特異的 T 細胞のヘルパー機能を反映するため、*p53KO* マウスにおいては正常に T 細胞の免疫寛容が誘導されていることが示された。すなわち、*p53KO* マウスにおける経口免疫寛容による抗体応答の低下の部分的解除は B 細胞の異常に起因することが示唆された。

総合討論ではこれまでの結果をまとめ、腸管免疫応答、経口免疫寛容に関する総合的な討論を行った。本研究は抗原の経口投与によって引き起こされるアポトーシスの制御に注目することによって経口免疫寛容における全身免疫系と腸管免疫系の制御に重要な知見を与えるもので新たな視点として食物アレルギーの治療の応用に貢献すると考えられる。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。