菌体成分を用いての免疫細胞活性化の機序の解析： *Bacterionema matruchotii* 由来水溶性アジュバント物質 (Bu-WSA) の作用について

新 田 敏 正

東北歯科大学 口腔細菌学教室
郡山市富田町字三角堂31-1 〒963
〔受付：6月6日，1986年〕

1. はじめに
2. アジュバント物質 (Bu-WSA) の抽出とその組成
3. Bu-WSA のアジュバント作用
4. Bu-WSA のマイトーゲン作用とポリクロナール抗体産生作用
5. レクチン活性化 T 細胞への Bu-WSA による活性化増強作用機序
6. おわりに

1. はじめに

細菌の菌体あるいはその構成成分のあるものは生体にとって抗原となるばかりでなく生物活性を持つていて、生体の免疫応答を賦活化することが知られている。したがってこれらは種々な免疫現象を解析する上できわめて有用な物質として使用されるのみならず、免疫療法剤として臨床的にも使用されている。

われわれはグラム陽性の線状菌で強い菌体内石灰化を示し、口腔内での歯石形成に関与する細菌因子の1つと考えられている *Bacterionema matruchotii* がマウスの網内系機能、特に食食能および殺菌能を著しく亢進させる働きのあることを見出した¹⁾。この作用は生菌のみならず死菌菌体においても認められることからこの活性物質の抽出を試み、グラム陰性菌からのリポポリサッカライド (Lipopolysaccharide, LPS) の抽出法の1つである Morrison 法²⁾ (ブタノール法) に準じてグラム陽性菌である *B. matruchotii* を処理し水溶性の活性物質を得ることができた。この物質がアジュバント作用を持つ³⁾ことから *B. matruchotii* のブタノール処理により得られる水

溶性アジュバント物質 (Butanol-Extracted Water Soluble Adjuvant) として Bu-WSA と呼んでいる。本稿ではこの Bu-WSA のマウスおよびヒト免疫系細胞に対する作用を解析して得られた知見を中心に述べる。

2. アジュバント物質 (Bu-WSA) の抽出とその組成

B. matruchotii を 0.2% に Yeast extract を添加した brain heart infusion broth で 7 日間 37C で培養後 10,000×g 10 分間遠心して集菌し、菌体を生理的食塩水にて洗浄後 0.25g/ml の浮遊液に調製した。Morrison 法²⁾ に準じて菌体浮遊液に同量の n-ブタノールを加え 4C 15 分間マグネットスターラーでかく拌した。これらを 35,000×g で 20 分間遠心すると沈渣、水溶性画分、ブタノール画分に分けられ、菌体にあつた網内系賦活能¹⁾ は水溶性画分に認められる。さらに、この画分に認められる活性物質を精製する目的から水溶性画分を集めプロナーゼ処理後に濃縮し、セファロース 4B カラムによりゲルろ過を行い、活性を有する画分を集めた。この物質は C, 25.96%, H, 4.47%, N, 8.35%, P, 9.79% の元素分析値を示す。またこの物質は中性糖

(D-glucose として) 25.5%, 蛋白 (BSA として) 18.4% を含むがアミノ糖を含んでいないことから、ペプチドグリカンとも異なる。さらにこの物質の持つ活性は *B. matruchotii* がグラム陽性菌であることや 2-keto-3-deoxyoctonate が検出されないこと、リムルーステスト陰性であることから LPS とともに LPS の混入によるものではないことが認められる。この物質を羊の赤血球を抗原として抗原とともにマウス腹腔内に投与すると抗原単独投与のものに比べ脾臓細胞中の抗体産生細胞数を増加させた (アジュバント活性)³⁾ ので、この物質の活性成分を Bu-WSA と名付けた。

3. Bu-WSA のアジュバント作用

胸腺依存性の抗原である羊赤血球 (SRBC) をキャリアーとして、パプテン (トリニトロフェニル, TNP) を結合させた TNP-SRBC を抗原として用い、先にキャリアーである SRBC 単独あるいは SRBC と Bu-WSA の双方を投与されたマウスに TNP-SRBC を投与し、TNP に対する抗体産生を調べると SRBC と Bu-WSA の双方を先に投与されたマウスの抗体産生が著しく高められる³⁾。また、遺伝的に胸腺を欠いているヌードマウスに Bu-WSA と SRBC を投与しても SRBC に対する抗体産生を高めることができる (成熟 T 細胞がなくてもアジュバント作用を発揮できる)。さらに *in vitro* で抗原や T 細胞マイトーゲンであらかじめ刺激された *Lyt-1* T 細胞にも Bu-WSA が作用し、その分裂を高めること⁹⁾ から、Bu-WSA は活性化されているヘルパー T 細胞にも作用すると考えられる。他方では Bu-WSA は網内系賦活能を持ち、Bu-WSA を投与されたマウスは *Salmonella typhimurium* に対する感染抵抗性を示すとともに、そのマクロファージの食能および殺菌能が著しく亢進している¹⁰⁾。これらのことから Bu-WSA は主としてヘルパー T 細胞とマクロファージへ作用してアジュバント作用を発現させると推測される。なお LPS や BCG の細菌アジュバントは抗原投与前に投与すると抗体産生を抑制する作用を持つことが知られている^{4,6)}。これはそれらがサブレッサー T 細胞を活性化し⁷⁾ 抑制作用を持つ *Mφ* を誘導し⁸⁾ マイトーゲン作用に基づく抗体産生前駆細胞を消費⁵⁾ することによって起こると考えられている。しかし、Bu-WSA にはこのような作用は認められない。

4. Bu-WSA のマイトーゲン作用とポリクロナール抗体産生作用

4-1 Bu-WSA はマウス B 細胞マイトーゲンである

ある種の細菌菌体あるいはその成分はマウスリンパ球に直接作用し細胞分裂を誘導する作用 (マイトーゲン作用) がある。それには B 細胞に作用するもの、T 細胞に作用するものあるいは双方の細胞に作用するものに分けられる¹¹⁻¹⁴⁾。

In vitro で培養されたマウス脾臓細胞に Bu-WSA を添加すると細胞分裂の誘導が起こることからマイトーゲン作用があることがわかる¹⁵⁾。脾臓細胞をあらかじめナイロンウールカラムを通過させ、あるいは抗 Ig 抗体と補体で処理してその中の B 細胞を除いた細胞培養には Bu-WSA のマイトーゲン作用は認められなくなること、胸腺細胞にもその作用を示さないことなどから、Bu-WSA はマウス B 細胞マイトーゲンであると考えられる。しかしヒトリンパ球にはマイトーゲンとしての作用を示さない。

4-2 Bu-WSA はポリクロナール B 細胞抗体産生 activator (PBA) である

B リンパ球に作用する多くのものはマイトーゲン作用のみならず、ポリクロナールに抗体を産生させることができる。Bu-WSA はこのタイプの活性物質である¹⁶⁾。しかしマイトーゲン作用とポリクロナールな抗体産生が必ずしも平行しないマイトーゲンも存在する¹⁷⁾。

4-3 Bu-WSA は LPS と異なつた B 細胞亜群に作用する

B 細胞には分化の程度の異なつた細胞が集まつており、細胞表面マーカー (*Lyb-5*⁺, *Lyb-5*⁻) や補体 C3 レセプターの有無、抗原レセプターである免疫グロブリン (surface Ig) の型の違つた細胞が含まれ、マイトーゲンに対する反応性、T 細胞依存性抗原や非依存性抗原に対する反応性にも違いが認められる heterogeneity が高い細胞集団である。事実一般に広く B 細胞マイトーゲンとして用いられているグラム陰性菌由来の内毒素 (LPS) はマウス B 細胞のわずか 15 から 25% を、また別の B 細胞マイトーゲンである dextran sulfate は 5% 以下の B 細胞を分裂させるのみであるし、また B 細胞のポリクロナールな抗体産生の機序も LPS によるものと pokeweed mitogen によるものとは異なつていること¹⁸⁻²⁰⁾ が報告されている。

Bu-WSA に反応する B 細胞と LPS に反応する B 細胞とはその subpopulation (亜群) が異なることは次の実験成績から明らかである¹⁵⁾。すなわちマウス脾臓細胞を培養し、そこに LPS と Bu-WSA の双方を加えるとその細胞分裂の程度が LPS と Bu-WSA をそれぞれ単独に加えて培養した際の細胞分裂の和に等しくなる。また *in vivo* で先に LPS を投与されたマウスの脾臓細胞を *in vitro* で LPS とともに培養すると LPS に対する反応は著しく低下するが Bu-WSA に対する反応の低下は認められないし、逆に Bu-WSA を投与されたマウスの脾臓細胞は Bu-WSA に対する反応は低下し、LPS に対する反応は低下を示さない (これらは LPS や Bu-WSA を *in vivo* で投与されたマウスはそれぞれのマイトージェンに対する B 細胞が生体内で消費されるために *in vitro* での脾臓細胞の反応がそれぞれのマイトージェンに対する反応が低下するものと考えられている)。さらに、X 線を照射し細胞を殺したマウスに正常マウスからの骨髓細胞を移入し、移入後経時的に脾臓細胞の LPS と Bu-WSA に対する反応を調べると LPS に対する反応が早期に回復し Bu-WSA に対する反応は遅れて回復することが認められる。(LPS と Bu-WSA に反応する B 細胞の成熟度に違いがある)。この他、LPS あるいは Bu-WSA の存在下で培養し、そこに抗 Ig 抗体を加えると LPS と Bu-WSA のマイトージェン作用は抑制される²¹⁾ が、両者の間ではその抑制の程度に違いが認められる (Bu-WSA の作用がより強く抑制される)。なおこの抑制は抗 μ 抗体でのみ認められること²²⁾ から affinity の比較的強い surface IgM が数的に多くの surface IgM を所有する B 細胞 (より成熟した B 細胞) に抗体が作用する結果、Bu-WSA のマイトージェン活性が抑制されたことが推測される (すなわち、Bu-WSA はこのような B 細胞に働くと考えられる)。

4-4 Bu-WSA は LPS-non responder 細胞には作用するが Xid-defect 細胞には作用しない

遺伝的に特定のマイトージェンに反応性を欠損するマウスは、それぞれのマイトージェンの作用と B 細胞活性化の機序を知る上で有用な知見を提供してくれる。これらのマウスには C3H/HeJ²³⁾, C57BL/10/CR²⁴⁾, CBA/N²⁵⁾ マウスが知られている。C3H/HeJ や C57BL/10/CR マウスは第 4 番目の常染色体上にある *lps*-locus の異常に基づいてフェノール抽出 LPS には不反応で細胞分裂もポリクロナールな抗体産生も誘導されない。しかし C3H/HeJ マウスの B 細胞は Bu-WSA に対しては正常に反応し、分裂し、ポリクロナールに抗体を産生する。他方 CBA/N マウスは Lyb-5⁺B 細胞の成熟化が阻害され、Lyb-5⁻B 細胞が多数を占め B 細胞マイトージェンに対する反応性が著しく低下しており細胞分裂もポリクロナール抗体産生も、さらに自己抗体産生もきわめて弱いことが知られている²⁶⁾。この異常が X 染色体上の Xid-locus に基づくことから、他系統の正常マウスのオス、例えば BALB/c マウスのオスと CBA/N のメスとの F₁ マウスはオスが欠損、メスが正常マウスと同様の形質を持つことになる。Bu-WSA は (CBA/N メス×BALB/c オス) F₁ マウスのメスの B 細胞に対してマイトージェン活性化およびポリクロナールな抗体産生を示す。しかし F₁ (CBA/N メス×BALB/c オス) マウスのオスにはその活性を示さない¹⁶⁾。すなわち、Bu-WSA は Lyb-5⁻B 細胞には作用しないが、Lyb-5⁺B 細胞には作用することができる。

5. レクチン活性化 T 細胞への Bu-WSA による活性化増強作用機序

マウス B 細胞マイトージェンである Bu-WSA はヒトリンパ球やマウス T リンパ球にはマイトージェンと

表 1. Bu-WSA と Con A によるヒト T 細胞の分裂増強作用

培地への添加物質 ^{a)}	³ H-サイミジンの取込み量 (×10 ⁻³ cpm/培養細胞) ^{b)}				
	末梢リンパ球	T 細胞	B 細胞	T 細胞と B 細胞	T 細胞とマクロファージ
None	5.1±0.8	1.4±0.1	1.5±0.1	4.9±0.6	2.4±0.3
Con A	15.7±1.1	3.6±0.3	2.7±0.1	20.7±1.3	13.1±0.5
Con A+Bu-WSA	92.5±7.0	2.5±0.1	2.3±0.2	112.8±4.8	55.2±7.1
Bu-WSA	4.1±0.7	2.6±0.2	2.3±0.3	2.7±0.1	2.9±0.1

a) Con A: 5μg/ml, Bu-WSA: 1.25μg/ml。

b) 末梢リンパ球および T 細胞は 1×10⁵ 細胞/0.2ml/培養, B 細胞は 2.5×10⁴ 細胞/0.2ml/培養, マクロファージは 1×10⁴ 細胞/0.2ml/培養で 5 日間培養した。

しての作用を持っていない。しかし T 細胞マイトージェンとして知られているコンカナバリン A(Con A) と Bu-WSA をヒト末梢リンパ球とともに培養すると Con A 単独のものに比べ著しく細胞分裂の増加(相乗作用)が認められる^{27, 28)}。このような作用は LPS により報告²⁹⁻³²⁾されているがその機序については不明であった。ヒト末梢リンパ球を T 細胞, B 細胞に分けてしまうと、それぞれの細胞において Con A と Bu-WSA によるこの細胞分裂増加は認められなくなる(表 1)。しかし T 細胞と B 細胞あるいは T 細胞とマクロファージ(Mφ)を混在させると末梢リンパ球同様 Con A と Bu-WSA による細胞分裂の増加が再び認められるようになる。さらに T 細胞と B 細胞の組み合わせの中で B 細胞の一方をマイトマイシン(MMC)処理をしたものでも Con A と Bu-WSA による相乗作用が認められ、T 細胞の一方を MMC 処理をするとまったく細胞分裂

が認められなくなる。したがって Con A と Bu-WSA による相乗作用によつて分裂する細胞は T 細胞であり、この分裂にはヘルパー作用を示す B 細胞あるいは Mφ との共同作用が必要であることがわかる。同様の作用は LPS のほか muramyl dipeptide (MDP) やその誘導体(MDP-Lys (L18)), dextran sulfate (DS) にも認められる³³⁾(表 2)。すなわちマウス B 細胞マイトージェンは Con A による T 細胞の分裂を増強する作用を持つ。

T 細胞分裂機序に関する研究はこれまで主として T 細胞マイトージェンであるレクチン(Con A, フェトヘマグルチニン)を用い行われてきた。その結果、従来単に膜面上への刺激に基づくと考えられていた T 細胞の分裂がレクチン刺激 T 細胞からの T 細胞増殖因子(インターロイキン 2:IL2)の産生、IL2 に対するレセプターの形成、そのレセプターへの IL2 の結合といった

表 2. マウス B 細胞マイトージェンによる Con A 刺激ヒト T 細胞分裂増強

B 細胞マイトージェン ^{a)}	³ H-サイミジンの取り込み量 ^{a)} (1×10 ⁻³ cpm/培養細胞)	
	Con A 刺激 T 細胞 ^{b)}	正常 T 細胞
None	58.5±6.4	6.3±1.9
Bu-WSA	143.2±1.2	7.6±1.4
LPS	108.2±9.9	6.7±0.8
MDP	100.1±4.2	6.8±1.2
MDP-Lys (L18)	88.1±5.5	4.6±1.8
DS	81.5±3.1	2.4±0.7

a) 5μg/0.2ml/培養。

b) 1×10⁶T 細胞を 25μg/ml の Con A で 37℃ 20 時間前培養した。

c) 5×10⁴ の B 細胞存在下で 4 日間培養し、培養終了 20 時間前に ³H-サイミジンを加えた。

表 3. Bu-WSA の T 細胞への作用

培養細胞群(前処理) ^{a)}	³ H-サイミジンの取り込み量 ^{b)} (1×10 ⁻³ cpm/培養細胞)
T 細胞(Con A)と B 細胞(無処理)	15.9±1.2
T 細胞(Con A)と B 細胞(Bu-WSA)	23.3±2.2
T 細胞(Bu-WSA)と B 細胞	0.2±0
T 細胞(Con A+Bu-WSA)と B 細胞(無処理)	77.5±5.7
T 細胞(無処理)と B 細胞(Con A+Bu-WSA)	2.4±0.2
T 細胞(Con A+Bu-WSA)	2.5±0.1

a) T および B 細胞を 25μg/ml の Con A と Bu-WSA の双方あるいは一方を加え 37℃ 24 時間培養した。T 細胞は 1×10⁵/0.2ml/培養, B 細胞は 5×10⁴/0.2ml/培養を加えている。

b) 4 日間培養。

一連の作用の結果 T 細胞が分裂増殖する機序が明らかとなった³⁴⁻³⁶⁾。またこの分裂には Ia 陽性の細胞 (B 細胞や Mφ) との共同作用が必須である事も明らかとなった。このような機序の中で Con A と Bu-WSA による T 細胞分裂増強作用は Bu-WSA のどのような作用によるものかを検討すると, Con A と Bu-WSA の双方を刺激された T 細胞に無処理の B 細胞を加えたものにもつとも強い相乗作用が認められ, Bu-WSA を作用させた B 細胞は Con A 刺激 T 細胞の分裂を高めることはできなかつた (表 3)。これらの結果は Bu-WSA が Con A で刺激された T 細胞に作用し双方の刺激を受けた T 細胞に B 細胞が作用し分裂が高めら

れることを示している。この B 細胞の作用は Mφ で代用することができるし, アロの細胞, MMC 処理したものや X 線を照射された B 細胞および Mφ でもその作用を有している。しかしこの作用は抗 HLA-DR 抗体で B 細胞および Mφ を処理すると抑制される (表 4)。またこの B 細胞および Mφ のヘルパー作用は Con A と Bu-WSA で刺激された T 細胞群からメンブレンフィルターで隔絶すると消失してしまう (表 5)。これらのことから B 細胞および Mφ のヘルパー作用は T 細胞へ直接接触して細胞表面上の Ia 抗原を介して何等かのシグナルを与えていると考えられる。T 細胞の分裂において Ia 陽性細胞は accessory cell として

表 4. 抗 HLA-DR 抗体による B 細胞とマクロファージのヘルパー作用の抑制

培養細胞群 ^{a)} (前処理) ^{b)}	³ H-サイミジン取り込み量 ($\times 10^{-3}$ cpm/培養細胞)
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) のみ	5.0 $\pm$ 0.1
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) と B 細胞	70.6 $\pm$ 0.9
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) と抗 HLA-DR 抗体処理 B 細胞	6.5 $\pm$ 0.6
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) と抗 HLA-DR 抗体および補体処理 B 細胞	5.2 $\pm$ 1.4
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) とマクロファージ	50.1 $\pm$ 6.5
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) と抗 HLA-DR 抗体処理マクロファージ	4.1 $\pm$ 0.5
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) と抗 HLA-DR 抗体および補体処理マクロファージ	1.6 $\pm$ 0.2

a) 4 日間培養。

b) T 細胞は 1×10^6 の細胞数当り 25 μ g の Con A と Bu-WSA を加え 37C 20 時間前処理をした B 細胞とマクロファージはそれぞれ抗 HLA-DR 抗体を補体の存在下あるいは非存在下で処理した。

表 5. Con A と Bu-WSA による T 細胞分裂増強作用における T 細胞と B 細胞あるいはマクロファージとの接触の必要

培養細胞群 ^{a)}		上のチャンバーの細胞群による ³ H-サイミジンの取り込み量 ^{c)} ($\times 10^{-3}$ cpm/培養細胞)
上のチャンバーの細胞 (前処理) ^{b)}	下のチャンバーの細胞	
T 細胞 (Con A+Bu-WSA)	—	11.1 $\pm$ 0.2
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) とマクロファージ	—	193.8 $\pm$ 3.7
T 細胞 (Con A+Bu-WSA)	マクロファージ	26.6 $\pm$ 0.4
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) と B 細胞	—	263.8 $\pm$ 27.9
T 細胞 (Con A+Bu-WSA)	B 細胞	0.7 $\pm$ 0.1
B 細胞	—	5.8 $\pm$ 1.2
マクロファージ	—	0.8 $\pm$ 0.3

a) マールブルック型培養瓶を使用。上のチャンバーには 3×10^5 T 細胞と 3×10^5 B 細胞あるいは 6×10^4 マクロファージを 0.3ml の培養液で培養。下のチャンバーには 3×10^5 B 細胞とあるいは 6×10^4 マクロファージを 0.4ml 培養液で培養。

b) 1×10^6 T 細胞を 25 μ g/ml の Con A と Bu-WSA で 37C 20 時間培養し前処理した。

c) 培養終了の 20 時間前に ³H-サイミジンを加えた。

T 細胞からの T 細胞増殖因子の産生を誘導するためのシグナルを与えることが知られている³⁴⁾。そこで Con A と Bu-WSA による T 細胞分裂増強作用における T 細胞増殖因子の関与の有無を調べる目的から、メンブレンフィルターで仕切られた二つのチャンバーからなるマールブルック型の培養器を用いた上・下のチャンバーに T 細胞のみを置き下のチャンバーに T 細胞と B 細胞あるいは Mφ を置き両チャンバー内に Con A と Bu-WSA の共存下で培養し上のチャンバーの T 細胞による細胞分裂を調べると下のチャンバーに T と B 細胞および T 細胞と Mφ を培養した群に強い細胞分裂が認められた³⁹⁾。これらの成績は Con A と Bu-WSA の作用を受けた T 細胞が B 細胞あるいは Mφ のヘルパーを受けて T 細胞増殖因子を産生し、この因子がメンブレンフィルターを通り上のチャンバーの Con A で刺激された T 細胞に作用し分裂が起こると考えられる。事実、Con A と Bu-WSA の双方の刺激を受けた

T 細胞は Con A 単独のものに比べ Ia 陽性細胞存在下で強い IL2 (T 細胞増殖因子) の産生を行う (表 6, 7)。Bu-WSA 単独では T 細胞からの IL2 を産生することはできない。T 細胞増殖因子としては IL2 の他に IL1 が知られている。IL1 は B 細胞および Mφ より産生され IL2 の産生を増強すること⁴⁰⁻⁴²⁾ により T 細胞の分裂を高める作用を持っている。また、多くの B 細胞マイトジェンは Mφ に作用し IL1 を産生させる作用を持つことが知られている。Bu-WSA は Mφ に作用し IL1 を産生させる。したがって Con A と Bu-WSA による T 細胞分裂増強作用における T 細胞増殖因子産生増強は Bu-WSA による Mφ あるいは B 細胞からの IL1 産生とその IL1 による IL2 の産生増加によるものと Con A 刺激 T 細胞への直接的な Bu-WSA による IL2 産生増加作用による機序が考えられる。そこでこれらのことを調べる目的から、T 細胞と B 細胞あるいは T 細胞と Mφ の培養中に Con A と

表 6. Bu-WSA による T 細胞よりの T 細胞増殖因子の産生増加

培養細胞 (前処理) ^{a)}		上のチャンバーの細胞群による ³ H-サイミジンの取り込み量 ^{d)} ($\times 10^{-3}$ cpm/培養細胞)
上のチャンバーの細胞群 ^{b)}	下のチャンバーの細胞群 ^{c)}	
T 細胞 (Con A)	None	4.6 $\pm$ 0.2
T 細胞 (Con A)	T 細胞と B 細胞	6.1 $\pm$ 0.3
T 細胞 (Con A)	T 細胞 (Con A) と B 細胞	65.2 $\pm$ 13.0
T 細胞 (Con A)	T 細胞 (Con A と Bu-WSA) と B 細胞	226.1 $\pm$ 5.1

a) マールブルック型培養瓶で 4 日間培養。

b) 3×10^5 T 細胞 /0.3ml/培養。T 細胞は先に 1×10^6 の細胞数に 25 μ g の Con A で 37C 20 時間培養し前処理をしたもの。

c) T と B 細胞それぞれ 3×10^5 の細胞数を含み、T 細胞は先に 25 μ g の Con A と Bu-WSA あるいは Con A のみで 37C 20 時間培養し前処理されたもの。

d) 培養終了の 20 時間前に ³H-サイミジンを加えた。

表 7. Bu-WSA によるインターロイキン 2 の産生増加

細胞培養上清 ^{a)} (前処理)	培養上清中の IL2 産生量 (U/ml) ^{b)}
T 細胞	0
T 細胞と B 細胞群	0
T 細胞 (Con A+Bu-WSA)	<0.1
T 細胞 (Con A)	<0.1
T 細胞 (Con A+Bu-WSA) と B 細胞	7.3
T 細胞 (Con A) と B 細胞	0.3

a) 48 時間培養後の上清。

b) IL2 依存性細胞株 CTLL 細胞を用いた上清の連続希釈法により測定。

図 1. Bu-WSA による Con A 刺激 T 細胞の分裂増強機序
 : Bu-WSA の作用部位 IL1 : インターロイキン 1
 Con A : コンカナバリン A IL2 : インターロイキン 2
 IL2R : インターロイキン 2 レセプター

Bu-WSA あるいはそれぞれ単独に加えた培養細胞中に産生される細胞増殖因子を調べると、T と B 細胞群では IL1 の産生は認められないのに Con A と Bu-WSA による IL2 産生増加が認められること⁹⁾、T 細胞と Mφ の細胞群は Bu-WSA 単独でも IL1 の産生が認められ、この IL1 は Ia 陽性細胞存在下で Con A 刺激 T 細胞からの IL2 産生を増強させた⁴³⁾。したがって図 1 に示すように Con A と Bu-WSA の T 細胞分裂増強作用は Bu-WSA の Con A 刺激 T 細胞からの IL2 産生増加作用と Mφ への作用により産生された IL1 に依存して IL2 の産生が増加したことに基づくと考えられる³⁹⁾。

6. おわりに

菌体成分を用いた免疫応答の機序の研究は古くから LPS, ノカルディア, ミコプラズマ由来の菌体成分を用い広く活発に進められ多くの成果を上げている。しかし、それら以外のアジュバント物質の免疫応答への作用機序に関する研究は少なく、不明な点が多い。本稿では口腔内細菌 *B. matruhotii* 由来水溶性アジュバント物質 (Bu-WSA) を用いた著者ら自身の研究に限って記述した。口腔常在菌である *B. matruhotii* の菌体成分が生体

の免疫系に対して LPS と類似した活性を示すことは興味深い。本研究はその物質のアジュバント作用機序を解明するに留まらずさらに B 細胞マイトジェンに属すると考えられるこのような物質が、活性化 T 細胞にも作用し、IL2 の産生を高め、その結果 T 細胞の分裂を増強すること、Mφ にも作用し、IL1 を産生させ、それが T 細胞からの IL2 産生を促進することなど、B 細胞マイトジェンのリンパ球に対する複雑な作用機序の一端を明らかにした点に意義があるものと思われる。

最後に本研究を進めるにあたり終始温かい御指導をいただきました。奥村晴一教授 (東北歯大), 中野昌康教授 (自治医大) に心から感謝致します。また田辺将夫助教授 (琉球大・医), 滝 龍雄講師 (自治医大) はじめ東北歯科大学口腔細菌学教室および自治医科大学微生物学教室の諸兄の御援助に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 新田敏正, 奥村晴一, 中野昌康 (1977): 日細菌誌, 32, 691-696.
- 2) Morrison, D. C., and Leive, L. (1975): J. Biol. Chem., 250, 2911-2919.
- 3) Nitta, T., Okumura, S., Tanabe, M. J., and Nakano, M. (1978): Infect. Immun., 20, 721-727.

- 4) Franzl, R. E., and McMaster, P. D. (1968): *J. Exp. Med.*, **127**, 1087-1107.
- 5) McMaster, P. D., and Franzl, R. E. (1968): *J. Exp. Med.*, **127**, 1109-1125.
- 6) Nakano, M., Shimamura, T., and Saito, K. (1971): *Jap. J. Microbiol.*, **15**, 149-158.
- 7) Malakian, A. H., and Schwab, J. H. (1971): *J. Exp. Med.*, **134**, 1253-1265.
- 8) Nelson, D. S. (1973): *Nature*, **246**, 306-307.
- 9) Nitta, T., Konno-Ejiri, H., Nemoto, K., Okumura, S., Ozawa, A., and Nakano, M. (1986): *Scand. J. Immunol.*, (in press).
- 10) Nitta, T., Konno, H., Okumura, S., Saito-Taki, T., and Nakano, M. (1983): *Jpn. J. Oral Biol.*, **25**, 390-393.
- 11) Ling, N. R., and Kay, J. E. (1975): Lymphocyte stimulation, 103, North-Holland, Amsterdam.
- 12) Oppenheim, J. J., and Rosenstreich, D. L. (eds) (1976): *Mitogens in Immunology*, Academic Press, New York.
- 13) 笠原 忠, 伊藤喜久 (1979): *臨床検査*, **23**, 660-667.
- 14) 中野昌康 (1984): *臨床免疫*, **16**, 12-19.
- 15) Nitta, T., Okumura, S., and Nakano, M. (1980): *Infect. Immun.*, **28**, 28-37.
- 16) Okumura, S., Nitta, T., and Nakano, M. (1981): *Microbiol. Immunol.*, **25**, 1139-1149.
- 17) Jelinek, D. F., and Lipsky, P. E. (1983): *J. Immunol.*, **130**, 2597-2604.
- 18) Wetzel, G. D., and Kettman, J. R. (1981): *J. Immunol.*, **126**, 723-728.
- 19) Wetzel, G. D., Swain, S. L., Dutton, R. W., and Kettman, J. R. (1984): *J. Immunol.*, **133**, 2327-2332.
- 20) Saito-Taki, T., Nakano, M., Kiso, M., and Hasegawa, A. (1985): *Microbiol. Immunol.*, **29**, 1111-1120.
- 21) Nitta, T., Okumura, S., and Nakano, M. (1980): *Microbiol. Immunol.*, **24**, 999-1003.
- 22) Nitta, T., Okumura, S., Owada-Hamada, A., and Nakano, M. (1981): *Microbiol. Immunol.*, **25**, 95-99.
- 23) Sultz, B. M. (1968): *Nature*, **219**, 1253-1254.
- 24) McAdam, K. P. W. J., and Ryan, J. L. (1978): *J. Immunol.*, **120**, 249-253.
- 25) Scher, I., Ahmed, A., Strong, D. M., Steinberg, A. D., and Paul, W. E. (1975): *J. Exp. Med.*, **141**, 788-803.
- 26) Saito-Taki, T., Tanabe, M. J., Mochizuki, H., Matsumoto, T., Nakano, M., Takada, H., Tsujimoto, M., Kotani, S., Kusumoto, S., Shiba, T., Yokogawa, K., and Kawata, S. (1980): *Microbiol. Immunol.*, **24**, 209-218.
- 27) Nitta, T., Okumura, S., Tsushi, M., and Nakano, M. (1982): *Microbiol. Immunol.*, **26**, 585-597.
- 28) Nitta, T., Okumura, S., and Nakano, M. (1984): *Jpn. J. Oral Biol.*, **26**, 528-530.
- 29) Schmidtke, J. R., and Najarian, J. S. (1975): *J. Immunol.*, **114**, 742-746.
- 30) Forbes, J. T., Nakao, Y., and Smith, R. T. (1975): *J. Immunol.*, **114**, 1004-1007.
- 31) Ozato, K., Adler, W. H., and Ebert, J. D. (1975): *Cell. Immunol.*, **17**, 532-541.
- 32) Hatfield, S. M., and Schmidtke, J. R. (1981): *Infect. Immun.*, **31**, 1007-1013.
- 33) Nitta, T., Konno-Ejiri, H., Okumura, S., Ozawa, A., and Nakano, M. (1985): *Microbiol. Immunol.*, **29**, 441-449.
- 34) Smith, K. A., Gillis, S., Baker, P. E., and McKenzie, D. (1979): *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **332**, 423-432.
- 35) Bonnard, G. D., Yasaka, K., and Jacobson, D. (1979): *J. Immunol.*, **123**, 2704-2708.
- 36) Larsson, E. L., and Coutinho, A. (1979): *Nature*, **280**, 239-241.
- 37) Andersson, J., Gronvik, K. O., Larsson, E. L., and Coutinho, A. (1979): *Eur. J. Immunol.*, **9**, 581-587.
- 38) Smith, K. A. (1980): *Immunol. Rev.*, **51**, 337-357.
- 39) Nitta, T., Okumura, S., and Nakano, M. (1985): *J. Immunol.*, **134**, 808-814.
- 40) Mizel, S. B. (1982): *Immunol. Rev.*, **63**, 51-72.
- 41) Matsushima, K., Kuang, Y. D., Tosato, G., Hopkins, S. J., and Oppenheim, J. J. (1985): *Cell. Immunol.*, **94**, 406-417.
- 42) Matsushima, K., Procopio, A., Abe, H., Scala, G., Ortaldo, J. R., and Oppenheim, J. J. (1985): *J. Immunol.*, **135**, 1132-1136.
- 43) Nitta, T., Konno-Ejiri, H., Nemoto, K., Okumura, S., Ozawa, A., and Nakano, M. (1986): *Immunology*, (in press).