消化器系組織における樹状細胞特異抗原の 経口免疫に伴う変化

田 口 健

九州歯科大学口腔細菌学講座 (指導: 内山長司教授)

平成6年4月25日受理

Dendritic Cell Antigen in Digesting Tissues of Rats after Oral Immunizations

Sugoya Taguchi

Department of Oral Bacteriology (Director: Prof. Choji Uchiyama)
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

Dendritic cells were widely distributed in tissues including digesting organs. The dendritic cells in the tissues were able to be detected by specific antigens. The antigens were studied immunohistologically and protein chemically after oral immunizations.

Results are as follows:

1. In the immunohistological study, the number of dendritic cells were increased in esophageal lamina propria, Peyer's patches and liver connective tissues after oral immunizations.
2. The increase in the dendritic cells in the immunohistological study were confirmed in the result in the protein chemical study, as well.
3. The results suggested that the dendritic cells in Peyer's patches and liver migrated with the stimulation after oral immunizations. The migration was not recognized in esophageal tissues.

The dendritic cells in digesting organs, as Peyer's patches of small intestine and liver, may migrate with the stimulation after oral immunizations.

Key words: Dendritic cells / Esophagus / Migration

緒 言

免疫系は、外界から投与された抗原に対して反応する場合、その投与方法と抗原の経路によってその反応様式が異なることが知られている¹⁾。なかでも経口免疫は、粘膜面からの免疫を成立させるのに非常に有効な投与方法である。しかし、タンパク質系の抗原を長期間もしくは多量に経口投与すると、宿主に相反する2種類の免疫

応答が同時に誘導されてくる。一つは、粘膜局所におけるIgAを中心とした抗原特異的な免疫応答の維持であり、もう一つは全身系における抗原特異的な免疫応答の抑制である。この現象は古くから経口免疫寛容(経口トレランス)としてよく知られ²⁾、生体の恒常性を保つという点から、生理学的にも、免疫学的にも大変意義が深いことである。

口腔粘膜および消化管は、常に食物タンパク、細菌性

タンパク、莢膜多糖、ウイルスなど抗原性を有する多くの異種物質にさらされている。消化管粘膜は生体に必要な栄養物質の能率的な吸収を行う。また消化管、口腔粘膜とも異種抗原の通過や侵入を阻止している。すなわち、これらの侵入に対して第一線の防御機構としての役割を担っているのが、分泌型IgAを中心とする粘膜免疫であると考えられる。抗原に特異的なIgAを誘導するには、粘膜面に散在する粘膜関連リンパ系組織（mucosa associated lymphoid tissue：MALT）が重要な役割を果たしており、これらの組織にはIgA応答に必要な全ての免疫担当細胞が存在している。消化器の場合、消化管関連リンパ系組織（gut associated lymphoid tissue：GALT）、気道および扁桃の場合、気管附属リンパ組織（bronchus associated lymphoid tissue：BALT）が中心となり、経口的に侵入してきた異物に対するIgA特異抗体を誘導してくる。また、GALT、BALT内に取り込まれ、抗原の刺激をうけた免疫担当細胞は、IgAを誘導するための特有なメカニズムである循環帰巢回路を介して、腸管粘膜固有層および遠隔の粘膜免疫影響組織に到達する³⁾。

口腔の免疫機構では上皮組織のランゲルハンス細胞（LC）やマクロファージ（Mφ）、所属リンパ節内では樹状細胞（veiled cells, interdigitating cells）やMφが抗原刺激により増加することが明らかにされている⁴⁾。一般に樹状細胞は抗原刺激により容易に移動することが知られている^{5,6)}。この口腔、消化管粘膜はMALTに属することから抗原の経口投与による消化器系組織における樹状細胞の動態を比較検討することは有意義である。

本研究は、このような経口免疫によって刺激された免疫担当細胞、なかでも抗原提示の役割を担っている樹状細胞の消化器系臓器組織における動態を免疫組織学的、蛋白化学的に検討したものである。その結果、各消化器系器官で抗原刺激にともなった樹状細胞の増加が観察され、また蛋白化学的解析では各々の臓器に特有な変化が認められたので報告する。

材料および方法

I. 実験材料

A. 実験動物

動物は8週齢のWistar系雄ラットを九動株式会社より購入し、九州歯科大学動物研究施設で十分に環境に順応させた後実験に供した。

B. 抗原

ラットの経口免疫には *Escherichia coli* 0111：B4 由

来の lipopolysaccharide（LPS：Difco 社）、ovalbumin（OVA：Sigma 社）を各々滅菌生理的食塩水で溶解して、10 μg/ml に調製して使用した。

C. 一次抗体

Western Blot 法および免疫組織学的染色（間接酵素抗体法）の一次抗体として以下の抗体を使用した。

1. 抗樹状細胞抗体

本講座で作成したモノクローナル抗体 KO3⁴⁾、またラット胸腺、リンパ節、脾臓の樹状細胞を認識するモノクローナル抗体（1F119：Holland biotechnology 社）の2種類の抗樹状細胞抗体を使用した。

2. 抗ラット・マウス Ia 抗体

樹状細胞の表面マーカーの一つである Ia 抗原の発現を確認するため、ラット・マウスの Ia 抗原と特異的に反応するモノクローナル抗体 OX-3（Serotec 社）を使用した。

D. 二次抗体

Western Blot 法および間接酵素抗体法では、ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG および Ig 抗体（Cappel 社）を二次抗体として使用した。

E. 発色基質

Western Blot 法では発色基質として 3,3'-ジアミノベンチジン 4 塩酸塩（DAB）10 mg、イミダゾール 14 mg を 0.1 M トリス-塩酸緩衝液（pH 7.4）20 ml に溶解し、使用直前に過酸化水素水 4 μl を加えて使用した。また間接酵素抗体法では DAB 2 mg、イミダゾール 7 mg を 0.1 M トリス-塩酸緩衝液（pH 7.6）10 ml で溶解し、使用直前に最終濃度 0.05% になるように過酸化水素水を添加し使用した。

II. 実験方法

A. 免疫方法

エーテル麻酔下でラットに、煮沸消毒したシリコンチューブを咽頭部まで挿入し、抗原溶液（LPS または OVA）を 0.5 ml 注入した。なお、対照群には生理的食塩水のみを同様に 0.5 ml 注入した。

B. 試料の調製

抗原投与後 1 日目、3 日目と経日的にラットをエーテル麻酔によって安楽死させた。直ちに、食道、肝臓、小腸（パイエル板を含む）を摘出し、湿重量を測定して約 20 倍量の Lysis Buffer 中でホモジネイトした。なお、Lysis Buffer の組成は 50 mM トリス-塩酸緩衝液（pH 8.0）、150 mM 塩化ナトリウム、0.02% アジ化ナトリウム、100 μg/ml ジチオスレイトール、1% ノニデット P-40 である。以上のホモジネイト液は 4℃、18,000 × g

で 10 分間遠心し、その上清を可溶性画分として得た。なお、蛋白定量はプロテインアッセイキット (Bio-Rad 社) を用いて行った。

C. Western Blot 法

各臓器組織より調製した試料は、Laemmli (1970)⁷⁾の方法に基づいて 10% SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。泳動後のゲルをメンブレンフィルター (Immobilon-P, Millipore 社) に電気的に転写させ、転写後フィルターは 1% 脱脂粉乳加 TTBS, すなわち 10 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.8), 250 mM 塩化ナトリウム, 0.05% トゥイーン 20 で 30 分間ブロックした。続いて TTBS で 1,000 倍に希釈した KO3 抗体と 4℃ で一晩反応させた。TTBS で 3 回洗浄後、フィルターは 2,000 倍に希釈したペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG を加えて室温で 40 分間反応させた。再び TTBS で 3 回洗浄後、DAB 基質溶液を用いて発色させた。なお、KO3 抗原量は、レーザーデンスitomーター (LKB 社) を用いて積分定量した。

D. 凍結切片の作製

摘出したラットの各臓器組織の一部はリン酸緩衝化生理的食塩水 (PBS) で軽く洗浄後、compound (Bright 社) に包埋し、急速凍結させた。凍結した試料はクリオスタットを用いて厚さ 6 μ m の切片を作製した。

E. 間接酵素抗体法による染色

組織内の抗原の検出は間接酵素法により行った^{8,9)}。凍結切片は 4℃ アセトンで 10 分間固定した。PBS で洗浄後、内因性ペルオキシダーゼを除去するために、0.03% 過酸化水素水加メタノールに 30 分間浸漬し、冷 PBS で 5 分間の洗浄を 3 回行った。続いて室温で 30 分間ブロックエース (大日本製薬社) を用いてブロックキングし、冷 PBS で 15 分間の洗浄を 3 回行った。PBS で 500 倍に希釈した KO3, 1F119 抗体あるいは 100 倍に希釈した OX3 抗体と室温で 1 時間反応させた後、冷 PBS にて 1 時間洗浄した。次に PBS で 200 倍に希釈したペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG, または Ig 抗体に 0.02% ウシ血清アルブミン, 1% ラット正常血清を加えて室温で 1 時間反応させた。冷 PBS による洗浄は 4℃ で 2 時間以上行ない、その後 DAB 基質溶液と 10 分間反応させた。対比染色はメチルグリーン核染色を行った。

結 果

本研究では、抗原の経口投与による粘膜免疫応答に関

して、樹状細胞特異抗原がどのように変化しているかを検索した。ラット消化器系各臓器組織 (食道、小腸、肝臓) における樹状細胞の分布を、モノクローナル抗体 (KO3, 1F119, OX3) による免疫組織学的染色で観察し、さらに KO3 抗原量を Western Blot 法にて定量した。

I. 食道での変化

図 1 にラット食道における免疫組織学的染色の結果を示す。生理的食塩水を投与した対照群では、樹枝状の形態をした KO3 陽性細胞は粘膜固有層に分布していたが、その細胞数はわずかであった (図 1-a)。2 種類の抗原を経口投与すると投与後 1 日目、3 日目で KO3 陽性細胞数が明らかに増加していた (図 1-b, c)。また、結果は示していないが KO3 陽性細胞とほぼ同じ部位に同じ反応性の 1F119 陽性細胞が確認された。これらは、いずれも Ia 抗原を発現していた。なお、粘膜上皮 (重層扁平上皮) 内には、樹状細胞 (KO3 陽性細胞, 1F119 陽性細胞) は存在していなかった。

一方、Western Blot 分析の結果、食道において KO3 は 28 kDa の蛋白質と反応していた。また KO3 抗原量は LPS や OVA の経口投与によって明らかに増加し、免疫組織学的染色の結果と一致していた (図 2-a, b)。

いずれの結果も抗原の経口投与によって、食道粘膜固有層に存在する樹状細胞が増加していることを示しているが、投与した抗原の種類による差異は認められなかった。

II. 小腸における変化

図 3 にラット小腸における免疫組織学的染色の結果を示す。対照群では、小腸絨毛の上皮細胞や粘膜固有層の腸線周囲が茶褐色に染色されているのが観察されたが、樹枝状の形態は認められなかった。しかし、抗原の経口投与後 1 日目にはパイエル板の濾胞域を囲む傍濾胞域に KO3 弱陽性細胞が観察された (図 3-a)。さらに投与後 3 日目には、その細胞数が増加していた (図 3-b)。また、結果は示していないが KO3 陽性細胞とほぼ同じ部位に同じ反応性の 1F119 陽性細胞が確認された。これらは、いずれも Ia 抗原を発現していたが、反応性は弱かった。

Western Blot 分析の結果、小腸において KO3 抗原は非常に興味ある結果を示した。対照群では KO3 は 33 kDa の蛋白質と反応していたにもかかわらず、LPS や OVA の経口投与後 1 日目では、33, 35 kDa の蛋白質と交叉反応し、さらに 3 日目では 35 kDa の蛋白質と反応する変化が認められた (図 4-a)。また、KO3 抗原量

図1-a 食道の対照（生理食塩水投与）

図1-b 食道の LPS 投与後1日目

図1-c 食道の LPS 投与後3日目

図3-a 小腸の LPS 投与後1日目

図3-b 小腸の LPS 投与後3日目

図5-a 肝臓の対照（生理食塩水投与）

図5-b 肝臓の OVA 投与後1日目

図5-c 肝臓の OVA 投与後3日目

図2-a Western Blot 分析 (食道)

図2-b KO3 抗原の発現量 (食道)

も抗原投与後、特に3日目35 kDaの蛋白質が著しく増加していた (図4-b)。

なお、いずれの結果も投与した抗原の種類による差異は認められなかった。

Ⅲ. 肝臓における変化

図5にラット肝臓における免疫組織学的染色の結果を示す。対照群では、門脈周囲の結合組織に樹枝状の形態をしたKO3強陽性細胞が存在していたが、その細胞数はごくわずかであった (図5-a)。LPSやOVAの経口投与後、1日目、3日目とその細胞数は著しく増加しているのが観察された (図5-b, c)。また、結果は示していないがKO3陽性細胞とほぼ同じ部位に同じ反応性の1F119陽性細胞が確認された。これらは、いずれもIa抗原を発現していた。

一方Western Blot分析の結果、肝臓においてKO3は28, 35 kDaの蛋白質と反応していた。KO3抗原量はLPSやOVAの経口投与後1日目、3日目と対照群に比較して増加し、免疫組織染色の結果と一致していた (図6-a, b)。分子量別にみると、LPSやOVAの経口投与によって35 kDaのKO3抗原量は、各々3日目に増加しており、特にOVA3日目には著しい増加が観

図4-a Western Blot 分析 (小腸)

図4-b KO3 抗原の発現量 (小腸)

察された。一方、28 kDaのKO3抗原量は、経口投与による変化はみられなかった。以上の結果から、免疫組織染色で増加が認められたKO3陽性細胞のほとんどが、35 kDaに抗原蛋白質を有しているものであると考えられる。なお、肝臓では小腸において観察されたような経口投与に伴うKO3抗原の分子量変化は観察されなかった。

また、投与した抗原別にみると、OVAの方がLPSよりもKO3抗原量の増加がやや多かった。

考 察

I. 経口投与に伴う樹状細胞特異抗原の変化

A. 食道

口腔、食道粘膜は、重層扁平上皮細胞によって覆われ、物理的侵襲に強い抵抗性を有している。Yassinら(1976)¹²⁾は、ヒト食道上皮細胞および粘膜固有層にランゲルハンス細胞(LC)が存在していることを報告している。LCは、樹状細胞群の一つで主として表皮に存在する。LCはBirbeck顆粒を持つことを特徴としてお

図6-a Western Blot 分析 (肝臓)

図6-b KO3 抗原の発現量 (肝臓)

り^{10,11)}, Yassin ら (1976)¹²⁾ は電顕的にそれらを確認している。本研究において KO3, 1F119陽性細胞はともに粘膜固有層では多数観察されたものの、上皮細胞では全く認められなかった。この結果は、正常状態でヒト食道上皮細胞には MHC クラス II 抗原が発現されていないという名倉 (1992)¹³⁾ の報告と一致している。従って、KO3 が LC とは別の樹状細胞群を認識しているか、あるいは逆に KO3 が LC を認識しているとするならば、ラット食道において LC は上皮細胞に存在しないことを示唆している。

また、LPS や OVA の経口投与によっても、KO3, 1F119陽性細胞の局在部位に変動は見られなかったが、その細胞数は明らかに増加していた。粘膜固有層には密な血管網と神経線維網とが形成されているが、その間にごく少数のリンパ球、肥満細胞および樹状細胞、Mφ が散在性に分布している¹⁴⁾。また、名倉 (1992)¹³⁾ によると粘膜固有層における免疫担当細胞数は、正常粘膜に比べて炎症病巣で増加しており、血管内皮細胞における細胞接着分子等の発現も強くなっていた。さらに、上皮細胞層の破綻により粘膜のバリエーが解けると、一層の円柱上皮細胞からなる腸管での炎症病巣とほとんど区別の

つかない免疫担当細胞の分布と、構成細胞の表面抗原の発現となることも示した。

B. 小腸のパイエル板

長谷ら (1993)¹⁵⁾ は、KO3 抗原がラット各臓器組織で異なる分子量を示し、28, 33, 35 kDa の蛋白質と反応することを示した。本研究において、小腸では経口免疫にともなって KO3 抗原の分子量が変化するという興味深い結果が得られた。すなわち、正常状態の小腸では、KO3 抗原の分子量は 35 kDa であったが、LPS や OVA の経口投与後 1 日目 35 kDa, 3 日目 35 kDa と経口的に出現し、変化がみられた。この 33 kDa の分子量は、長谷ら (1993)¹⁵⁾ が報告した顎下リンパ節、脾臓のものに一致している。すなわち、経口免疫によってリンパ系器官に存在している樹状細胞が小腸パイエル板に移動してきた可能性が考えられる。

また、免疫組織染色の結果、抗原投与後パイエル板の傍濾胞域に KO3, 1F119弱陽性細胞が観察されてきたことから、抗原刺激によって樹状細胞の移動が起こったものと考えられる。なお、KO3, 1F119弱陽性細胞の存在部位は Mayrhofer ら (1983)¹⁶⁾ や Pavli ら (1990)¹⁷⁾ の報告と類似していた。傍濾胞域は、濾胞域と粘膜固有層の中間領域で、多数の T 細胞が集積している。すなわち、ここで樹状細胞による抗原提示が行われていると推察されるが、これらの樹状細胞がどこから移動してきたものかは不明である。

C. 肝臓

経口的に投与された抗原が、局所免疫を通過し血中に流入した場合、最初に到達するのが肝臓である。肝臓は、胎生期においては重要な造血臓器であるが、生後も胸腺外 T 細胞分化の場として重要な働きをしている。経口トレランスにおいても、腸管リンパ系とともに肝臓は、特に腸管リンパ系を通り越してきた抗原に対するトレランス誘導に重要な役割を果たしていると考えられる²⁾。しかし、このトレランスの成立にはクッパー細胞による抗原の認識が必要とされており、肝臓に樹状細胞が存在しているとの報告^{18,19)}はあるが、その機能的なことはほとんど不明である。本研究において、経口投与後経口的に KO3, 1F119陽性細胞が増加しており、しかもその増加は 35 kDa の KO3 抗原によるものであった。小腸パイエル板と同様に、35 kDa の KO3 抗原がリンパ系器官の由来であると仮定するならば、肝臓にも血液を介して樹状細胞の流入が起きていると考えられる。

II. 経口投与に伴うリンパ球の変化

Ruedl ら (1993)²⁰⁾ は呼吸器感染に関連する 7 種類の

細菌の菌体成分よりなる標品をマウスに経口投与したところ、非処理群マウスに比べて、免疫群マウスでは粘膜固有層やパイエル板のリンパ球が移動し、肺で有意に増加していた。この所見は、GALTと肺との間に密接な関連があるということを示唆している。すなわち、細菌溶解物を経口投与することによって、呼吸器系における積極的な免疫応答を誘導できる可能性を示している。

Ⅲ. 投与した抗原による違い

経口で摂取し、腸管粘膜を経て生体内へと侵入する異物の非自己抗原決定基に対して、GALTを通して粘膜でIgA抗体を産生させる正の動きと、栄養摂取の形でとられた抗原に対する全身的な免疫抑制（食物アレルギーの阻止）という負の動きが働く。それに関して、細菌の侵入、あるいは細菌由来の抗原は正の動きを進め、可溶性蛋白質の形で経口摂取すると長く続く全身的免疫抑制が引き起こされる²¹⁾。今回、実験に用いた抗原溶液はLPS、OVAの2種であったが、樹状細胞特異抗原の増加に関して、これらの違いによる差は認められなかった。

また、蛋白質系抗原を投与することによって全身系免疫に抗原特異的寛容が誘導されるという事実は、自己免疫疾患、遅延型過敏症、食物アレルギーなどの治療、予防を考えたとき、非常に魅力的なアプローチとなってくる。本研究は、粘膜免疫や、経口トレランスを直接的に解明するものではないが、樹状細胞が少なくともこれらの免疫応答に関与する免疫担当細胞の一つであることを示唆している。

結 論

消化器系各臓器組織に存在する樹状細胞特異抗原の、経口投与に伴う変化を免疫組織学的、蛋白化学的に検討した結果、以下のような結論を得た。

1. 免疫組織学的染色の結果、食道粘膜固有層、小腸パイエル板、門脈周囲結合組織に存在する樹状細胞数はいずれも経口投与による刺激で増加した。

2. 免疫組織染色による樹状細胞数の増加と、蛋白化学的解析による樹状細胞特異抗原量の増加は平行していた。

3. 経口免疫によって、小腸パイエル板および肝臓では、樹状細胞の移動が生じている可能性が示唆された。一方、食道では、移動は認められなかった。

以上の結果から、抗原の経口投与により消化器系臓器の小腸パイエル板および肝臓において樹状細胞が移動する可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、御懇篤な御指導、御校閲を賜りました口腔細菌学講座内山長司教授に心から感謝いたします。また、御協力をいただきました長谷恭子助手および口腔細菌学講座の皆様には厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) Steinman, R. M.: The dendritic cell system and its role immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.* 9: 271-296, 1991.
- 2) 小山田尚, 橋木俊聡: 経口トレランスの機序. *Annual Review 免疫* 1993: 127-133, 1993.
- 3) 名倉 宏: 粘膜の構造的特徴と粘膜免疫. *免疫薬理* 11 (3): 236-242, 1993.
- 4) 岡 知子, 井上博雅, 高井 寛, 内山長司: ラット顎下リンパ節樹状細胞の免疫組織学的観察—新しいモノクローナル抗体 KO3—. *歯基礎誌* 32 (3): 238-245, 1990.
- 5) Kupiec-Weglinski, J. W., Austyn, J. M. and Morris, P. J.: Migration patterns of dendritic cells in the mouse. Traffic from the blood, and T cell-dependent and -independent entry to lymphoid tissues. *J. Exp. Med.* 167: 632-645, 1988.
- 6) Fossum, S.: Lymph-borne dendritic leucocytes do not recirculate, but enter the lymph node paracortex to become interdigitating cells. *Scand. J. Immunol.* 27: 97-105, 1988.
- 7) Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4. *Nature* 227: 680-685, 1970.
- 8) 指宿良朗: ラット各組織における樹状細胞とマクロファージの分布. *九州歯会誌* 45 (4): 446-455, 1991.
- 9) 上田昭彦: 歯周組織における樹状細胞の動態に関する研究. *九州歯会誌* 46 (3): 482-491, 1992.
- 10) Kamperdijk, E. W. A., Berg, M. V. D. and Hoefsmit, E. C. M.: The immunological significance of birbeck granule containing cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 149: 415-420, 1982.
- 11) Kamperdijk, E. W. A.: Relation between Langerhans cells, veiled cells, and interdigitating cells. *Immunobiol.* 161: 255-265, 1982.
- 12) Yassin, T. M. A. and G. Toner, P.: Langerhans cells in the human oesophagus. *J. Anat.* 122: 435-445, 1976.
- 13) Nagura, H.: Mucosal defense mechanism in health and disease: Role of the mucosal immune system. *Acta. Pathl. Jpn.* 42: 387-400, 1992.
- 14) Lombardi, T., Hauser, C. and Budtz-jorgensen, E.: Langerhans cells: structure, function and role in oral pathological conditions. *J. Oral. Pathol. Med.* 22: 193-202, 1993.
- 15) 長谷恭子, 井上博雅, 安西裕一, 福泉隆喜, 安 民鎬, 内山長司: ラット各種臓器組織における抗樹状細胞抗体が認識する抗原の分布. *九州歯会誌* 47 (6): 663-670,

- 1993.
- 16) Mayrhofer, G., W. Pugh, C. and Barclay, A. N. : The distribution, ontogeny and origin in the rat of Ia-positive cells with dendritic morphology and of Ia antigen in epithelia, with special reference to the intestine. *Eur. J. Immunol.* 13 : 112-122, 1983.
- 17) Pavli, P., Woodhams, C. E., Doe, W. F. and Hume, D. A. : Isolation and characterization of antigen-presenting dendritic cells from the mouse intestinal lamina propria. *Immunology* 70 : 40-47, 1990.
- 18) Hart, D. N. and Fabre, J. W. : Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissues of rat heart and other tissues, but not brain. *J. Exp. Med.* 153 : 347-361, 1981.
- 19) Lautenschlager, I., Nyman, N., Vaananen, H., Lehto, V. P., Virtanen, I., and Hayry, P. : Antigenic and immunogenic components in rat liver. *Scand. J. Immunol.* 17 : 61-68, 1983.
- 20) Ruedl, Ch., Albin, B., Bock, G. : Oral administration of a bacterial immunomodulator enhances murine intestinal lamina propria and Peyer's patch lymphocyte traffic to the lung : possible implications for infectious disease prophylaxis and therapy. *Int. Immunol.* 5 : 29-36, 1993.
- 21) 藤橋浩太郎, 清野 宏 : 粘膜免疫と経口免疫寛容. *Medical Immunology* 26 (6) : 613-619, 1993.