シンポジウム 免疫異常症とその制御

(1) レアギン (IgE 抗体) 産生の機序とその制御

大阪大学医学部

岸本 忠三

SYMPOSIUM ON IMMUNOLOGIC DISORDERS AND THEIR CONTROL

(1) REGULATION OF THE IgE ANTIBODY RESPONSE

Tadamitsu KISHIMOTO, MD

Osaka University, Medical School

I. はじめに

I 型アレルギーはIgE抗体によつて起こされることが、石坂夫妻によるIgEの発見からアレルギー発症機序に関する一連の研究によつて完全に解明された。従つて、IgE抗体産生の機序を明らかにし、この抗体の産生を人為的に制御する方法を開発することは、即時型アレルギーの根本的な予防や治療につながると考えられる。

IgE抗体の産生にはIgG抗体の産生に認められないいくつかの特徴が存在する。すなわち、ある種のアレルゲンが体内に入つてきても、遺伝的に規定されたアレルギー患者以外には長く続くIgE抗体の産生はおこらない。動物においても通常の免疫法は殆どIgE抗体産生を起こさないか、起こしても一過性である。IgG抗体産生にはよいアジュバントである結核菌アジュバントは、IgE抗体産生を誘導せずむしろこれを抑えることが知られている。このようなIgEとIgG抗体産生の違いは何に起因するのであろうか？我々は以前の一連の研究によつてIgE抗体産生のみを選択的に調節するIgEクラスに特異的なヘルパーやサプレッサーT細胞が存在することを証明した。このヘルパーとサプレッサーのバランスによつて、IgE抗体の産生が他のクラスの抗体の産生とは独立して調節されていることが明らかとなり、このようなT

細胞の存在を考えることで、IgE抗体産生の特徴が説明され得るようになった。

II. IgEクラス特異サプレッサーT細胞

このようにIgE抗体産生がIgEクラスに特異的なヘルパーとサプレッサーのバランスによつて調節されているとすると、このサプレッサーT細胞の誘導を促進することによつてIgE抗体の産生のみを選択的に抑制しうるであろうと考えられる。そこで我々はIgEクラスに特異的なサプレッサーT細胞を誘導することを試みた。先にも述べたが、結核菌アジュバントがIgE抗体産生を誘導しえないという点に着目し、抗原決定基(実験モデルとしてジニトロフェニール基, DNP)を結核菌に結合させ、これでマウスを免疫してIgE抗体産生に対する影響を検討した。図1に示すようにDNP-結核菌(DNP-Tbcと略す)を投与したマウスを2週間後DNP-卵白アルブミンで免疫しても、抗DNP IgE抗体の産生が完全に抑えられることが明らかとなつた。しかしこのマウスにおいて、抗DNP IgG抗体の産生は全く抑えられなかつた。すなわちDNP-Tbcの投与はIgE抗体産生の選択的抑制を引起したことになる。

この選択的抑制がサプレッサーT細胞によるか否かを検討した。すなわち図2に示すようにDNP-Tbcを投与したマウスよりT細胞を分離し、これ

図1. DNP-結核菌投与によるIgE抗体産生の選択的抑制

図2. DNP-結核菌投与によるIgEクラス特異サプレッサーT細胞の誘導

を正常マウスに移入すると、正常マウスにおいてIgE産生が選択的に抑制されることが明らかとなった。このことはDNP-Tbc投与によつてIgEクラスに特異的なサプレッサーT細胞が誘導されたことを示している。

図3に示した実験はこのサプレッサーT細胞の

図3. DNP-結核菌感作T細胞によるIgEクラス特異サプレッサーファクターの産生

機能がサプレッサーファクターにより媒体されることを意味している。すなわちDNP-Tbc投与マウスよりT細胞を分離し、これをDNP-抗原 (DNP-HSAをパルスしたマクロファージ) で刺激すると、その培養上清中にIgE抗体産生のみを選択的に抑制するサプレッサー活性が認められた。この培養上清もIgE抗体産生のみを選択的に抑制し、IgG抗体産生には何ら抑制活性を発揮しなかつた。またこの実験から分かるように、このサプレッサーファクターはH-2遺伝子の産物を保有していることが分かつた。

それではこのIgMクラス特異サプレッサーファクター (IgE-TsF) は、どのような機構でIgE抗体産生のみを選択的に抑制するのであろうか。

図4. IgE分子によるIgEクラス特異サブプレッサーファクターの吸収

図5. IgEクラス特異サブプレッサーファクター分子上にIgE結合部位とH-2遺伝子産物が存在することの証明

adoptive transferの実験からIgE-TsFが作用を及ぼす標的細胞は、IgE-B細胞であることが明らかとなった。IgE-B細胞と他のB細胞との違いは、IgE-B細胞はその表面上にIgE分子を保有していることである。このことはIgE-TsFはIgE-B細胞上のIgE分子を識別して、それに結合し、その作用を発揮するであろうことが予測される。そこで我々はIgE-TsFがIgE分子に結合しうるか否かを検討した。図4に示すように、IgE-TsFの抑制活性はIgEを結合したセファローズカラムにより完全に吸収されることが明らかとなった。さらに図5に

示すごとく、IgE-TsFはIgEカラムから酸性バッファーで溶出することが出来、この溶出されたIgE-TsFはさらに抗H-2^dカラムに吸収されることが分かった。すなわちこれらの結果からいえることは、IgE-TsFはその分子上にIgEに結合する部分とH-2遺伝子の産物を持つているということである。

III. IgEクラス特異サブプレッサーTハイブリドーマの作製

我々はこのファクターの単離とその化学構造の解明を目的として、このファクターを大量に得るを試みた。1976年Milsteinによつて免疫学領域に細胞融合法の手法が導入されて以来、この方法は抗体産生細胞の「不死化」に応用され、我々は自由自在に我々の欲するモノクローナル抗体を得ることが出来るようになった。この方法は当然T細胞にも応用され、種々の機能をもつたT細胞を「不死化」することが可能であろうと考えられている。そこで我々はIgE-TsFを産生するTハイブリドーマを確立することを試みた。

図6に示すように、IgE特異サブプレッサーファクターを含むT細胞集団とAKRマウス由来のリンホーマ、BW5147とを融合し、自動的に増殖を続けるハイブリドーマを多数確立し、それら多く

H-2D: Balb/cマウス (サブプレッサーTはBalb/c由来)
H-2K: AKRマウス (リンパ球はAKR由来)

図6. 細胞融合法によるサブプレッサーT融合細胞の作製

のクローンの中からIgE産生に対して抑制活性を持つクローンをスクリーニングした。その結果、培養上清によつてIgE抗体産生が完全に抑えられるクローンが存在することが明らかとなつた。このハイブリッドクローンが産生するファクターを用いてその性状を検討した。その結果明らかとなつたことは、i) このファクターはIgE抗体産生にのみ選択的にその抑制活性を発揮する、ii) ファクターは抗原非特異的である、すなわちいかなる抗原に対するIgE抗体の産生をも抑制する、iii) H-2遺伝子の産物を含んでいる、iv) IgE分子に結合する部分を持つている、v) 直接IgE産生前駆細胞であるB細胞に働く、すなわちB細胞表面上に存在するIgE分子に結合してその分化増殖を阻止する、ということである。

IV. まとめと将来の展望

以上述べた実験を通じて、IgE抗体産生のみを選択的に抑制しうるT細胞が存在することが明らかにされ、このT細胞の機能は、この細胞が産生する可溶性因子によつて媒体されることが示された。

このようにして得られた基礎的な研究成果を実際に、ヒトのIgE抗体産生の制御に応用していくためには二つのアプローチが考えられる。一つはアレルゲンを結核菌菌体由来の成分に結合させて免疫し、このアレルゲンに対してIgE特異サプレッサーT細胞の誘導を促進しようとする試みである。我々はマウスにおいて抗原、例えばDNP基や、卵白アルブミンをミコール酸結合ムラミルジペプチドに結合して投与することにより、IgE特異サプレッサーT細胞が誘導しうることを示し、IgE抗体産生の選択的抑制が起こることを示した。

もう一つのアプローチはIgEクラス特異サプレッサーファクターの単離と、その構造決定を行ない、それを投与することによりIgE産生の制御を

試みることである。

1970年代の10年間に、T細胞のヘルパーやサプレッサー機能をメディエートすると考えられる可溶性因子の存在を示唆する報告が、文字通り枚挙にいとまないほど続いた。しかし未だに化学的に単離され、その化学構造が決定されたファクターは存在しない。その理由の一つはその産生量が非常に少ないことによるのかもしれないし、またリンパ球の多様性から非常に多くのファクターの混在がその単離を困難にしているのかもしれない。これらの難関は細胞工学的手法の導入によつて、今次々と打破されようとしている。ヘルパーやサプレッサーファクターを産生するハイブリドーマが次々と作られている。我々の研究室ではヒトのTハイブリドーマの作製にも成功した。ハイブリドーマの作るIgEクラス特異サプレッサーファクターはIgEカラムを用いて精製しうるであろうし、またファクターに対するモノクローナル抗体も作製することが出来るであろう。それらを利用すれば、ハイブリドーマからこのファクターをコードするm-RNAを取り出し、量終的にはこのファクターをコードするDNAのクローニングも可能であろう。そして最終的には遺伝子工学の手法を用いて大量にファクターを作らせることも夢ではないかもしれない。そしてこのファクターを用いてIgE抗体産生が人為的に制御出来る日もそう遠くはないかもしれない。

この研究は末村正樹、平井嘉勝、中西憲司、志甫理(阪大・医・第三内科)、渡辺武(佐賀医大)、I. Böttcher(シェーリング研究所)との協同研究によるものであり、この研究の遂行にあたつて御指導、御助言、御援助を賜った恩師、山村雄一大阪大学長、石坂公成ジョーンズホプキンス大学教授に感謝致します。

なおこの研究は文部省科学研究費、特別研究推進費によつてなされたものであります。