

Title	Effect of specific antigen stimulation on intraepithelial lymphocyte migration to small intestinal mucosa
Sub Title	特異的抗原刺激による腸上皮間リンパ球の小腸粘膜マイグレーションへ与える影響
Author	高本, 俊介
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.1 (2006. 3) ,p.17-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060302-0017">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060302-0017</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Effect of specific antigen stimulation on intraepithelial lymphocyte migration to small intestinal mucosa

(特異的抗原刺激による腸上皮間リンパ球の小腸粘膜マイグレーションへ与える影響)

高 本 俊 介

## 内容の要旨

小腸上皮は常に腸内フローラや食物抗原に曝されており、IEL (腸上皮間リンパ球) は腸粘膜防御に重要な役割を果たしている。一部のIELは血中より腸絨毛の微小血管に達しマイグレーションすると考えられるが、その機序や経路は不明であり、マイグレーション過程へのIELの抗原特異的活性化の影響も不明である。今回我々は、卵白アルブミン (OVA) 323-339に特異的なT細胞受容体 (TCR)  $\alpha\beta$ を発現するOVA23-3トランスジェニック (Tg) マウスから、抗原特異的IEL細胞株を樹立し、サイトカイン産生や抗原特異的増殖能を分析するとともに、小腸粘膜の微小血管へのマイグレーションに関して検討した。

本細胞株はThy 1、TCR $\alpha\beta$ 、CD4、 $\alpha_E$ および $\beta_7$ インテグリン、CD11aを発現し、CD8 $\alpha$ 、L-セレクトリンと $\alpha_4$ インテグリンを発現しなかった。さらに、 $\alpha_E$ および $\beta_7$ インテグリンはOVAで刺激された活性化細胞株で著しく発現が低下した。本細胞株はOVA刺激に対し高い増殖能を示し、活性化によりIFN- $\gamma$ 、IL-4およびIL-5のいずれも産生するのに対し、休止期の細胞株 (OVA刺激後1-4週経過したもの) ではIL-5のみを産生した。

次に、株化したIELの絨毛粘膜へのマイグレーションをマウス小腸粘膜側から蛍光生体顕微鏡下に観察した。休止期のIEL細胞株を蛍光色素にて標識し、Tgマウスの頸静脈から投与 ( $1 \times 10^7$ /body) し、40分間観察した。IEL細胞株は絨毛粘膜の微小血管内皮にローリングすることなく接着するのに対し、パイエル板の観察ではHEV (高内皮細静脈) にほとんど接着を認めなかった。休止期および活性化IELの絨毛粘膜への接着を比較すると、活性化IELの接着数はいずれの時間経過でも有意に少なかった。次に、表面接着分子に対する特異抗体を用いて休止期IEL細胞株の絨毛粘膜接着抑制効果について検討した。抗 $\beta_7$ インテグリン抗体あるいは抗MAdCAM-1抗体により接着数が約50%減少し、両者の関与が示唆されたが、両方の抗体を用いての接着抑制効果は約65%にとどまりそれ以外の機序の関与も考えられた。OVAを予め経口投与したTgマウスで休止期IELの絨毛粘膜への接着を観察すると、時間経過とともに接着数は徐々に増加するもののOVAを投与していないマウスに比べると少数にとどまり、また活性化IELを投与した場合は絨毛粘膜へほとんど接着が見られなかった。

本細胞株は末梢T細胞と異なるIELの特徴を有しており、そのサイトカイン産生からTh1とTh2の混在したものであることが示唆される。本研究の成績より、IELを抗原刺激すると腸管粘膜へのマイグレーション能力が低下し、絨毛粘膜での抗原特異的T細胞の割合が変化しうることを示した。抗原刺激されたIELのマイグレーションの低下が、腸管アレルギーや経口免疫寛容においてどのような意義を持つのかについては、今後明らかにすることが必要であると考えられた。

## 論文審査の要旨

IEL (腸上皮間リンパ球) は腸粘膜防御に重要な役割を果たしており、一部のIELは血中から腸絨毛の微小血管にマイグレーションすると考えられているが、その機序や経路は不明である。本研究では、卵白アルブミン (OVA) 323-339に特異的なT細胞受容体 (TCR)  $\alpha\beta$ を発現するOVA23-3トランスジェニック (Tg) マウスから抗原特異的IEL細胞株を樹立し、抗原特異的増殖能および生体での小腸粘膜へのマイグレーションにつき検討した。その結果、本細胞株は $\alpha_E\beta_7$ -インテグリン陽性で、末梢T細胞とは異なるIELの特徴を持ち、刺激後のサイトカイン産生からTh1とTh2の混在したものであること、特異的抗原刺激により絨毛粘膜へのマイグレーションが低下するが、これには $\beta_7$ -インテグリン、MAdCAM-1以外の要素も関わっている可能性が示唆された。

審査では、活性化したIELの小腸絨毛粘膜マイグレーションが低下した理由について質問され、活性化したIELでは $\beta_7$ -インテグリンの発現が低下し、これがマイグレーション低下の原因と考えられると回答された。また、休止期IELのマイグレーションが抗 $\beta_7$ -インテグリン抗体、抗MAdCAM-1抗体を併用しても完全に抑制できなかった理由に関して質問され、IELの小腸粘膜へのマイグレーションにケモカインTECK/CCL25とCCR9の関与が重要であることが最近報告されており、 $\beta_7$ -インテグリンとMAdCAM-1それぞれに対するリガンドを解明するとともに、ケモカインを中心とした他の因子に対する検討が必要と回答された。また、本細胞株はCD8およびTCR $\gamma\delta$ 陰性で、代表的なIELとは言い難いものではとの指摘に対し、IELのうちCD4 $^+$ の増殖能がCD8 $^+$ に比べ高く、これはOVATgマウスのTCRがクラスII MHC拘束性であること、またCD4 $^+$ TCR $\alpha\beta$  $^+$ IELの多くは胸腺由来と考えられ、本分画が血流を介して腸粘膜へマイグレーションしている可能性があり、CD4 $^+$ IELを用いることは意義があると回答された。OVA投与Tgマウスでは、OVA非投与Tgマウスと比較して、腸粘膜の血流量が増えたり、活性化後にリンパ球の大きさが変化したりした可能性について指摘された。これに対し、血流やリンパ球の大きさについては検討しておらず他に血小板の関与も含めた研究が必要であるが、OVA投与マウスでは免疫寛容状態になり、anergicなT細胞がIELのマイグレーションを抑制している可能性もあると回答された。この回答に対し、免疫寛容状態のマウスの腸管リンパ球や血管内皮の変化を詳細に検討し、また同細胞株を正常マウスに投与した場合のマイグレーションの検討もすべきとの指摘を受けた。

以上のように、本研究は今後検討されるべき課題が残っているものの、TgマウスからIELの細胞株を樹立し、特異的抗原刺激による小腸粘膜マイグレーション変化の一端を明らかにしたことで、腸管へのリンパ球ホーミングを中心とした粘膜免疫研究に有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 日比 紀文  
微生物学・免疫学 小安 重夫 外科学 北島 政樹  
医化学 末松 誠

学力確認担当者: 池田 康夫、小安 重夫  
審査委員長: 小安 重夫

試問日: 平成17年12月19日