

免疫学部門 Department of Immunology

外来由来の異物や、自己由来の異物的成分を適切に処理することによって、恒常性を維持する生体のメカニズムが生体防御機構である。免疫学部門は、この生体防御機構の基本的メカニズムを解析し、その情報に基づいて、生体防御機構の全体像を理解するための理論体系や座標軸を構築してきた。さらに、この理論体系の社会への応用として、先端技術型医療・生活型医療などのへの協力を行っている。

A 免疫学部門における基礎的研究

a. 感染に対する生体防御機構の研究

病原体が生体内に侵入すると、自然免疫のエフェクターである補体・好中球・マクロファージ・NK細胞が次々と病原体を攻撃し排除を試みるが、その病原体が何らかの病原因子を発現して自然免疫に対して抵抗性を有する場合は、T細胞およびB細胞による獲得免疫による防御反応がより大切になってくる。一方、自然免疫から獲得免疫に移行する中間期に、特殊なT細胞系列の防御エフェクターが存在することを見だし、それをPrimitive T cell responseとして報告するとともに、T細胞レセプター (TCR) を発現するT細胞がこの反応に参加することを報告してきた。

このT細胞の、感染防御に対する反応を詳細に検討したところ、以下のような、通常のT細胞と全く異なった性格を示す事が明らかとなった：1) 単一のTCR V領域遺伝子を発現したT細胞によるdiversityの低い反応を示す、2) 異なったタイプの感染(細胞内寄生性病原体と細胞外病原体との間)で、異なったTCR V領域遺伝子の発現が認められる、3) 特定の病原体の感染により誘導されるT細胞が複数の病原体に交叉反応性を示す。この結果から、T細胞には特定のV領域遺伝子を発現する亜集団があらかじめ準備されており、それが特定のタイプの病原体に交叉反応性を示すと考えられ、そのため感染後にクローン増殖することなく迅速に反応できるものと推定された。

自然免疫が病原性の低い病原体に重要であるのに対し、獲得免疫は病原性の強い病原体に対する防御機構の中心を担う。この獲得免疫の誘導制御に関する情報は、感染防御を理解するために重要であるだけでなく、ワクチン等の免疫療法開発においても、重要な情報となる。その観点から、B細胞およびマクロファージなど抗原提示細胞の獲得免疫成立とその制御における役割を、細胞内寄生性細菌感染モデルを用いて解析を行っている。その結果、マクロファージが防御免疫を誘導するのみでなく、成立した防御免疫をかえって抑制する局面もあること、B細胞はそれ自身が細菌を取り込み抗原提示することはできないが、それにもかかわらず獲得免疫成立に影響をおよぼすこと、の2点が明確になった。これらは、生きた病原菌を用いない受動免疫では報告されていない現象であり、感染免疫における感染症モデルの研究の重要性を示唆する。(松崎他)

b. ミトコンドリア依存性アポトーシス誘導機構の解析

細胞に、抗癌剤投与や紫外線・放射線照射、生存因子の欠乏などさまざまなストレスが加わったとき、ミトコンドリアが傷害を受けシトクロム c が放出される。Apaf1 は線虫のアポトーシス誘導遺伝子 CED-4 の哺乳類細胞におけるホモログであり、放出されたシトクロム c と結合することによりカスパーゼカスケードを活性化するアダプター分子として同定された。オンタリオ癌研究所 (Tak W. Mak 教授) にて作成された Apaf1 欠損マウスは神経前駆細胞のアポトーシスの著しい低下に伴って、脳に腫瘤形成を来し胎生期に死亡する。

この Apaf1 欠損マウスおよび Apaf1 欠損細胞を用いて、1) Apaf1-ミトコンドリア依存性アポトーシス誘導機構の胸腺細胞のネガティブセレクションへの関与、2) Apaf1 欠損細胞における細胞死誘導機構 (非典型的アポトーシスやネクローシス様細胞死) 以上、オンタリオ大学 Tak W. Mak 教授との共同研究、3) 非ステロイド系抗炎症剤によるアポトーシス誘導機構の解析と、Apaf1-ミトコンドリア依存性アポトーシス誘導機構の関与 (シカゴ・ノースウェスタン大学 Tesu Lin 博士との共同研究)、を解析している。

また、東海大学古賀泰裕教授、およびウイルス部門との共同研究として、CD4 陽性細胞における HIV env 蛋白発現による細胞死誘導機構の解析を行い、細胞内カルシウム上昇に伴うミトコンドリア、および小胞体傷害によりアポトーシスが誘導される機構を明らかにしつつある。(吉田他)

c. 遺伝子操作マウスを用いた生体防御系の解析

ジーンターゲットングは、生体内での目的分子の機能を解析するうえで、有力な方法である。これまで、種々の生体防御に関わるシグナル関連分子のノックアウトマウスを用いて、リンパ球やマクロファージの発生・分化および機能における役割を解析してきた。現在、2種類のチロシンホスファターゼ (PTP-J, PTP- (CD148)) のノックアウトマウスを作製し、解析中であるが、今のところ発生上の異常は認められず、免疫学的解析を行っている。また、 γ 型 T 細胞サブセットの詳細な機能を解析する目的で、T 細胞レセプター 鎖の V₁ 遺伝子の選択的ターゲットングを行った。V₁ ノックアウトマウスでは、胎仔期の胸腺細胞の発生に異常が認められ、皮内樹状 T 細胞の発生・分化や機能に興味深い知見が得られた。(岸原他)

d. 移植免疫に関する研究

近年、免疫抑制剤の開発・普及にともない、臓器移植の成功率は飛躍的に向上した。しかしながら、臓器移植においては今もなおドナー不足や免疫抑制剤の長期服用など問題は多い。このような問題を解決する方策の一つは、同種間あるいは異種間での臓器移植において免疫寛容を誘導できる方法を開発することである。我々は、薬剤誘導性免疫寛容誘導 (SCCP) 法を開発し、長年、その改善と免疫寛容誘導のメカニズムを解析してきた。本年度は、以下の研究を実施した。1) 骨

髄抑制作用のある薬剤との併用で、高く安定なキメリズム状態を達成し、MHC 不一致の同種皮膚移植片の高頻度な恒久着生に成功した。また、SCCP 法が、ラットの同所性肝移植において有効であることも明らかにした。2)異種の臓器移植は、ドナーがいない時の緊急避難的な救命処置として今後利用する方向で、研究が進められている。異種移植片の拒絶は、同種移植片の拒絶とは異なるメカニズムで起こることが分かってきたが、その詳細はまだ明らかではない。そこで、異種皮膚移植片の拒絶における CD4 T細胞と CD8 T細胞の役割を明確にする目的で、CD4 および CD8 のノックアウトマウスを用いて解析し、新しい知見を得た。3)免疫抑制剤の長期服用は副作用や quality of life (QOL) の観点から問題となっている。そこで、免疫抑制剤からの離脱を目的に、免疫寛容誘導の開発・改善を精力的に行っている。4)マウス同所性肝移植の系を用いて、免疫寛容誘導の分子機構を明らかにする目的で、とくにドナー特異的 T細胞クローンの排除における Fas/FasL 系の関与も検討した。

B 生体防御の社会的応用

a. 脳死、臓器移植の医療としての定着、普及

臓器移植を生体防御の立場からみると、移植臓器に対する拒絶反応を回避し、一方、感染症や自己由来の不用成分の蓄積を防ぐため生体防御機構全体としては健全に維持されることに目標がおかれる。骨髄中の造血機能にも障害を与え、移植臓器は生着しているものの、敗血症の危険にさらされるというタイプの免疫抑制法から、ヒトへの応用はスタートしている。骨髄中の造血系への障害はみられず、抗原刺激を受けて活性化の経路に入った Tリンパ球のみ選択的に抑制する免疫抑制法として、シクロスポリン中心の時代がつづいたが、移植後感染症、特に防御の中心が Tリンパ球である微生物に対する防御免疫も抑制するという問題が残されている。自己抗原に対して Tリンパ球の反応性が欠損あるいは低下している状態、すなわち免疫寛容の活用が最終的な免疫抑制法として設定される。この点から、厚生省科学研究、免疫・アレルギー・臓器移植分野の「免疫寛容の応用」の主任研究者（野本亀久雄）として、関連分野の基礎系、臨床系の研究者の総力をあげて、ヒトへの免疫寛容の積極的応用への道をひらくべく努力してきた。従来型の免疫抑制法から偶発的に免疫寛容状態に進んだ肝移植、腎移植の症例を集め、まず徹底的な免疫学的解析が進められ、もう一歩進んだ形として、免疫抑制剤の計画的離脱から免疫寛容導入へと進めるプロトコールが進められている。世界にさきがけて、免疫寛容の積極的応用を具体化すべく、強力な研究協力体制を構築している。

さらに、脳死、臓器移植の社会的な定着、普及についても、日本臓器移植学会（理事長：野本亀久雄）、日本臓器移植ネットワーク（副理事長：野本亀久雄）を通して、当部門が積極的に貢献している。1997年10月臓器移植法の実施以来、全国各地で提供施設との協力体制、地域社会としての意思表示カードの普及のための活動をくり返してきた。その結果、現在では、脳死からの臓器移植も現代の医療の一形態として、社会的に十分に受け入れられるに至った。

b. 生体防御論の高齢化社会への応用：在宅がん治療と在宅介護

高齢者や超高齢者の人口における割合が増加し、さらに複数の疾患をもつ人々が増加する21世紀には、健康の概念、言いかえると疾病の概念も変化せざるを得ない。高齢という背景、慢性疾患という背景があっても、生体防御機構を維持し、微生物と戦い自己由来の不用成分を処理し、自分なりの健康度で生きることが要求されつつある。この方向での基盤的科学として生体防御を活用すべく、多方向からの開発研究が多くの分野との協力で進められている。比較的病状の進展が早くかつ自分の意識が明確なまま一生を終えることが多いがん終末期をまず対象として選び、在宅型の新しいがん治療システムの構築について、がん集約的治療研究財団を通じて活発に活動している。がん在宅治療を通して得た技術的成果は、老人を対象とする在宅介護へも活用してゆく予定である。

c. 生体防御論の高齢化社会への応用：漢方薬・健康食品の科学的評価

高齢化に伴い増大するであろう健康保険の負担に対してどのように対処していくのかは国家レベルでの大きな問題となってきた。今後の健康保険の在り方が問われている現状においては、中・高齢者個々の健康管理の意識を高める必要があり、病気になる前段階で予防的な措置を個人レベルで考え、実践することが望ましい。漢方薬や健康食品は、健康維持や体質改善などに効果があることは広く知られているが、科学的な評価が明確にされているものは必ずしも多くなく、その規格や基準も曖昧なものが多い。したがって、漢方薬や健康食品の作用を免疫学を含む多角的な科学的基準で評価することは、消費者へ正しい情報を伝えることになり、健康食品産業の健全な育成の一助になるであろう。そういう観点から、生体防御を中心とした健康管理の在り方を啓蒙する活動を行う予定であり、漢方薬と健康食品の生体防御に基づいた解析・評価も行っている。

業績目録

原著論文

1. Kaneko M, Kawakita T, Kumazawa Y, Takimoto H, Nomoto K, Yoshikawa T. 1999. Accelerated recovery from cyclophosphamide-induced leukopenia in mice administered a Japanese ethical herbal drug, Hochu-ekki-to. *Immunopharmacology*. 44, 223-231.
2. Uchiyama H, Kong Y, Kishihara K, Sugimachi K, Nomoto K. 1999. Approach to withdrawal from tacrolimus in a fully allogeneic murine skin graft model. *Immunology*. 97, 294-300.
- c. Lin, T., Yoshida, H., Matsuzaki, G., Guehler. S. R., Nomoto, K., Barrett. T. A., and

- Green. D. R. 1999.
Autospecific thymocytes that escape negative selection find sanctuary in the intestine.
J. Clin. Invest. 104, 1297-1305.
4. Salem, M. L., Matsuzaki, G., Madkour, G. A., and Nomoto, K. 1999.
-estradiol-induced decrease in IL-12 and TNF- expression suppresses macrophage functions in the course of *Listeria monocytogenes* infection in mice.
Int. J. Immunopharmacol. 21, 481-497.
 5. Li, T., Tamada, K., Abe, K., Tada, H., Onoe, Y., Tatsugami, K., Harada, M., Kubo, C., and Nomoto K. 1999.
The restoration of the antitumor T cell response from stress-induced suppression using a traditional Chinese herbal medicine Hochu-ekki-to (TJ-41:Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang).
Immunopharmacology. 43, 11-21.
 6. Hasegawa, T., Ito, K., Ueno, S., Kumamoto, S., Ando, Y., Yamada, A., Nomoto, K., and Yoshikai, Y. 1999.
Oral administration of hot water extracts of *Chlorella vulgaris* reduces IgE production against milk casein in mice.
Int. J. Immunopharmacol. 21, 311-323.
 7. Yoshikawa, M., Tomita, Y., Uchida, T., Zhang, Q.W., Shimizu, I., and Nomoto, K. 1999.
Cyclophosphamide 200 mg/kg lacks ability to induce pluripotent stem cell engraftment in mice.
Transplant. Proc. 31, 1939.
 8. Matsuzaki, G., Vordermeier, H. M., Hashimoto, A., Nomoto, K., and Ivanyi, J. 1999.
The role of B cells in the establishment of T cell response in mice infected with an intracellular bacteria, *Listeria monocytogenes*.
Cell. Immunol. 194, 178-185.
 9. Wang, B., Kishihara, K., Zhang, D., Sakamoto, T., and Nomoto, K. 1999.
Transcriptional regulation of a receptor protein tyrosine phosphatase gene hPTP-J by PKC-mediated signaling pathways in Jurkat and Molt-4 T lymphoma cells.
Biochimica Biophysica Acta. 1450, 331-340.
 10. Hossain, M. S., Takimoto, H., Hamano, S., Yoshida, H., Ninomiya, T., Minamishima, Y., Kimura, G., and Nomoto, K. 1999.

- Protective effects of hochu-ekki-to, a Chinese traditional herbal medicine against murine cytomegalovirus infection.
 Immunopharmacology. 41, 169-181.
11. Nabeshima, S., Nomoto, M., Matsuzaki, G., Kishihara, K., Taniguchi, H., Yoshida, S., and Nomoto, K. 1999.
 T-cell hyporesponsiveness induced by activated macrophages through nitric oxide production in mice infected with *Mycobacterium tuberculosis*.
 Infect. Immun. 67,3221-3226.
 12. Uchida, T., Tomita, Y., Anzai, K., Zhang, Q. W., Yoshikawa, M., Kishihara, K., Nomoto, K., Yasui, H. 1999.
 Roles of CD4+ and CD8+ T cells in discordant skin xenograft rejection.
 Transplantation 68, 1721-1727.
 13. Matsuzaki G, Takada H, Nomoto K. 1999.
Escherichia coli infection induces only fetal thymus-derived T cells at the infected site.
 Eur. J. Immunol. 29:3877-3886.
 14. Tokuda N, Kano M, Meiri H, Nomoto K, Naito S. 2000.
 Calcitriol therapy modulates the cellular immune responses in hemodialysis patients.
 Am. J. Nephrol. 20, 129-137.
 15. Mori Y, Kaname H, Sumida Y, Tanaka S, Kubo C, Tashiro N, Nomoto K. 2000.
 Changes in the leukocyte distribution and surface expression of adhesion molecules accompanied with hypothalamically induced restlessness in the Cat.
 Neuroimmunomodulation. 7, 135-146.
 16. Salem ML, Hossain MS, Nomoto K. 2000.
 Mediation of the immunomodulatory effect of β -estradiol on inflammatory responses by inhibition of recruitment and activation of inflammatory cells and their gene expression of TNF- α and IFN- γ .
 Int Arch Allergy Immunol. 121, 235-245.
 17. Watanabe K, Noda K, Hamano S, Koga M, Kishihara K, Nomoto K, Tada I. 2000.
 The crucial role of granulocytes in the early host defense against *Strongyloides ratti* infection in mice.
 Parasitol. Res. 86, 188-193.
 18. Salem ML, Matsuzaki G, Kishihara K, Madkour GA, Nomoto K. 2000.

-estradiol suppresses T cell-mediated delayed-type hypersensitivity through suppression of antigen-presenting cell .

Int. Arch. Allergy. Immunol. 121, 161-169.

19. Sasaki M, Nakamura S, Ohyama Y, Shinohara M, Ezaki I, Hara H, Kadena T, Kishihara K, Yamamoto K, Nomoto K, Shirasuna K. 2000.

Accumulation of common T cell clonotypes in the salivary glands of patients with human T lymphotropic virus type I-associated and idiopathic Sjogren's syndrome.

J. Immunol. 164, 2823-2831.

20. Ninomiya T, Takimoto H, Matsuzaki G, Hamano S, Yoshida H, Yoshikai Y, Kimura G, Nomoto K. 2000.

V 1⁺ T cells play protective roles at an early phase of murine cytomegalovirus infection through production of interferon-gamma.

Immunology. 99, 187-194.

21. Yamada H, Nakamura T, Matsuzaki G, Iwamoto Y, Nomoto K. 2000.

TCR-independent activation of extrathymically developed, self antigen-specific T cells by IL-2/IL-15.

J. Immunol. 164, 1746-1752.