

提示細胞が関与していることが示唆された。一方、パイエル板における高い IL-6 分泌は T 細胞が重要であることが示された。パイエル板は IgA 産生応答の誘導部位と考えられ注目されてきた。未感作な表現型を示す CD4⁺ T 細胞で組織により異なるサイトカイン分泌を示すことを明らかにしたのはこれが初めてである。T 細胞の組織における差異を解析するのに重要であるばかりでなく、パイエル板における IgA 産生誘導機構の解析において重要な知見となりうるものである。

近年、様々な食品成分が免疫応答に影響を与えることが明らかとなり、アレルギー抑制作用、免疫増強作用等について報告されている。これら成分を含有する食品は、アレルギー疾患用食品、免疫機能向上食品等の病者用食品として期待される。その場合、摂取された食品が直接接する腸管免疫系に対する作用を評価する必要がある。本研究の実験系によりこれら食品、食品成分の腸管免疫応答に対する影響を観察することが可能となり、これら病者用食品の評価系を開発に有用と考えられる。

E. 結論

TCR tg マウスに異なる量の経口抗原が脾臓細胞のサイトカイン分泌と血中抗体のアイソタイプおよびパイエル板細胞のサイトカイン分泌と糞中抗体のアイソタイプのそれぞれ相関した異なる免疫応答を誘導することが明らかとなった。さらに *in vitro* でパイエル板細胞の特性を解析したところ、IgA 産生応答に関与する 2 つのサイトカイン、IL-5 および IL-6 の産生が脾臓細胞と比較して高いことが示された。

パイエル板における高い IL-5 分泌には抗原提示細胞が関与していることが示唆された。一方、パイエル板における高い IL-6 分泌は T 細胞が重要であることが示された。本研究の実験系により食品、食品成分の腸管免疫応答に対する影響を観察することが可能となり、免疫関連病者用食品の評価系の開発に有用と考えられる。

F. 研究発表

1. 発表論文

- 1) Ise, W., Totsuka, M., Takato, R., Hachimura, S., Sato, T., Ametani, A., Kumagai, Y., Habu, S. and Kaminogawa, S., Primary response of naive CD4⁺ T cells to amino-acid-substituted analogs of an antigenic peptide can show distinct activation patterns in terms of cytokine secretion and helper activity for antibody production. *FEBS letters* 465, 28-33 (2000).
- 2) Shida, K., Hachimura, S., Ametani, A., Ishimori, M., Ling, M., Hashiguchi, M., Ueda, Y., Sato, T., Kumagai, Y., Takamizawa, K., Habu, S. and Kaminogawa, S., Serum IgE response to orally ingested antigen: A novel IgE response model using allergen-specific T cell receptor transgenic mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* in press.
- 3) Hashiguchi, M., Hachimura, S., Ametani, A. and Kaminogawa, S., Th2 polarization enhanced by oral administration of higher doses of antigen. *Cytotechnology* in press.

2. 学会発表

- 1) 日本農芸化学会 1999 年度大会 渡邊裕子、八村敏志、足立はるよ、飴谷章夫、上野川修一 経口抗原に対する免疫応答への化学物質の影響
- 2) 日本農芸化学会 1999 年度大会 凌梅、八村敏志、植田祥啓、志田寛、佐藤健人、熊谷善博、垣生園子、飴谷章夫、上野川修一 TCR トランスジェニックマウスを用いた経口抗原に対する血中 IgE 応答モデルにおける T 細胞応答性の解析
- 3) 日本農芸化学会 1999 年度大会 高東留美、戸塚護、伊勢渉、志田寛、八村敏志、佐藤健人、飴谷章夫、熊谷善博、垣生園子、上野川修一 抗原経口摂取により誘導される抗原特異的 IgE 産生応答の TCR アンタゴニストペプチド投与による抑制
- 4) 平成 11 年度日本免疫学会学術集会 佐藤あゆ子、橋口昌章、佐藤健人、飴谷章夫、垣生園子、八村敏志、上野川修一 パイエル板抗原提示細胞により誘導されるサイトカイン分泌応答の解析
- 5) 平成 11 年度日本免疫学会学術集会 橋口昌章、佐藤健人、飴谷章夫、佐藤健人、熊谷善博、垣生園子、八村敏志、上野川修一 未感作パイエル板 CD4+ T細胞細胞と未感作脾臓 CD4+ T細胞の差異

4. 腸管免疫細胞を利用した免疫関連病者用食品の評価法の開発のための基礎研究

A. 研究目的

腸管免疫組織 (GALT) に独特のリンパ球発生器官が存在することを見出し、cryptopatch (CP) と命名した。この発生器官におけるリンパ球発達分化機構を追究することによって GALT の特殊性について分子・遺伝子レベルでの解明を行い、腸管粘膜免疫防御の制御に向けた技術の確立を目指し、これによって免疫関連病者用食品の評価法の開発を目的とする。

B. 研究方法

T 細胞抗原レセプター (TCR) や各種サイトカイン遺伝子を gene targeting の手法で破壊したミュータントマウスの腸管リンパ組織 (主として CP や上皮細胞間 T 細胞、すなわち IEL) の発達分化や腸管粘膜免疫防御を追究する。

(倫理面への配慮)

実験動物の取り扱いはすべて大学の定めるガイドラインを順守して行った。

C. 研究結果

サイトカインレセプター γ 鎖ミュータント (γ^+) マウス腸管には CP や CD8 $\alpha\alpha$ IEL が検出限界以下であることに着目し、正常マウス骨髄細胞 (WT-BM) を 6-Gy X 線照射 (6-Gy) 及び X 線非照射 (0-Gy) γ^+ マウス

(host) に移入して作製した BM キメラマウスでの CP 組織形成や IEL 発達分化を追究した。CP は c-kit⁺リンパ球 (LC) と CD11c⁺樹状ストローマ細胞 (DC) で構成されるが、BM \rightarrow 6-Gy γ^+ キメラマウスの CP 再構築は BM 由来 c-kit⁺LC と CD11c⁺DC から成る CP が形成され、BM 由来 CD8 $\alpha\alpha$ ⁺IEL が発達分化したのに対し、BM \rightarrow 0-Gy γ^+ キメラマウスでは BM 由来 c-kit⁺LC と γ^+ host 由来 CD11c⁺DC から成る CP が形成され、BM 由来 CD8 $\alpha\alpha$ ⁺IEL が発達分化した。この知見は γ^+ マウス CD11c⁺DC が正常に機能し得ることを示す。

IL-7receptor (IL-7R) からのシグナルは $\gamma\delta$ T 細胞発達分化に必須であり、CP の正常な発達分化に重要であり、IL-7⁺及び IL-7R⁺マウスは CP が激減するとともに $\gamma\delta$ -IEL は消失する。腸管脂肪酸結合タンパク遺伝子のプロモーターを使用することによって腸管上皮細胞のみが IL-7 を産生するトランスジェニック IL-7⁺ (iFABP-IL7) マウスを作製して、CP と IEL を検索した。その結果、CP は正常マウスの約半数まで回復するとともに $\gamma\delta$ -IEL の発達分化が確認された。一方、この iFABP-IL7 マウスでは、表皮内の $\gamma\delta$ -dEC をはじめ胸腺や脾臓の $\gamma\delta$ T 細胞は検出限界以下であった。この新知見は $\gamma\delta$ -IEL が腸管粘膜局所で発達分化することを立証するとともに、これに CP が重要であることを提示すると考えられる。

D. 考察

すべての $\gamma\delta$ -IEL と多数の $\alpha\beta$ -IEL は胸腺非依存性に腸管粘膜局所で発達分化するが、本研究によって CP が IEL 発達分化の場としての第一次リンパ組織であることが明確となった。腸管免疫関連病者、すなわち、食品アレルギーや各種炎症性腸疾患 (IBD) における CP や IEL を解析し、その機能を研究することによって、これら疾患の治療法追究が食事による治療法開発へと繋がることが期待される。

E. 結論

胸腺非依存性 IEL の発達分化が、腸管上皮細胞が産生するサイトカイン、主として IL-7、の存在下に骨髄由来幹細胞 \rightarrow CD11c⁺樹状ストローマ集積 \rightarrow 同集積での c-kit⁺ CD3⁻ IEL 前駆細胞の発達分化 \rightarrow c-kit⁺ CD3⁻ IEL の出現 \rightarrow 成熟 c-kit⁺ CD3⁺ IEL への最終発達分化と進行することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto, S., Sato, Y., Shimizu, T., Halder, R. C., Oya, H., Bannai, M., Suzuki, K., Ishikawa, H., Hatakeyama, K. and Abo, T.
Consistent infiltration of thymus-derived T cells into the parenchymal space of the liver in normal mice.
Hepatology 30 (No. 3) : 705-7013, 1999.

- 2) Kohyama, M., Nanno, M., Kawaguchi-Miyashita, M., Shimada, S., Watanabe, M., Hibi, T., Kaminogawa, S. and Ishikawa, H.
Cytolytic and IFN γ -producing activities of $\gamma\delta$ T cells in the mouse intestinal epithelium are T cell receptor- β chain dependent.
Proceedings of the National Academy of Sciences USA 96 (No. 13) : 7451-7455, 1999.
- 3) Saito, H., Kanamori, Y. and Ishikawa, H.
New gut associated lymphoid tissues "cryptopatches" breed murine intestinal intraepithelial T cells. In: The 10th International Congress of Immunology. Edited by Talwar, G. P., Nath, I., Ganguly, N. K. and Rao, K. V. S.
Monduzzi Editore, Italy 1615-1619, 1999.
- 4) Nanno, M., Kanamori, Y., Saito, H., Oida, T. and Ishikawa, H.
Cryptopatches : Newly identified murine gut-associated lymphoid tissues.
Mucosal Immunology Update 7 (No. 3) : 7-9, 1999.
- 5) Ishikawa, H., Saito, H., Suzuki, K., Oida, T. and Kanamori, Y.
New gut-associated lymphoid tissues "cryptopatches" breed murine intestinal intraepithelial T cell precursors.

- Immunologic Research** 20
(No. 3) : 243–250, 1999.
- 6) Oida, T., Suzuki, K., Nanno, M., Kanamori, Y., Saito, H., Kubota, E., Kato, S., Itoh, M., Kaminogawa, S. and Ishikawa, H.
Role of gut cryptopatches in early extrathymic maturation of intestinal intraepithelial T cells.
The Journal of Immunology 2000 (in press).
- 7) Kanamori, Y., Suzuki, K., Oida, T. and Ishikawa, H.
Gut-associated lymphoid tissue “Cryptopatches” and intrainestinal development of murine T cells.
Mucosal Immunology Update 2000 (in press).
- 8) Laky, K., Lefrançois, L., Lingenheld, E. G., Ishikawa, H., Lewis, J. M., Olson, S., Suzuki, K., Tigelaar, R. E. and Puddington, L.
Enterocyte expression of IL-7 induces development of $\gamma\delta$ T cells and Peyer’s patches.
The Journal of Experimental Medicine 2000 (in press).
2. 学会発表
- 1) Kenji Suzuki, Kaori Ishimaru, Hiromichi Ishikawa and Takatoku Oida.
Mice lacking gut cryptopatches fail to generate major CD8 $\alpha\alpha^+$ intraepithelial T lymphocytes.
Experimental Models of Immune Dysregulation and Mucosal Inflammation: Impact on the Understanding and Treatment of the Inflammatory Bowel Diseases
KEYSTONE SYMPOSIA on Molecular & Cellular Biology, USA, 1999年1月.
- 2) 石川博通.
<特別講演>腸管上皮細胞間T細胞 (IEL) の機能と発達分化.
第6回東日本IBD病因・病態フォーラム, 新宿, 1999年3月.
- 3) 石川博通.
<シンポジウム; 消化管への新しい形態学的アプローチについて>腸管上皮間T細胞の機能と発達分化.
第127回日本獣医学会, 淵野辺, 1999年4月.
- 4) K. Laky, L. Lefrançois, H. Ishikawa, S. Olson, K. Suzuki, K. Ishimaru, and L. Puddington.
Enterocyte expression of IL-7 induces development of TCR $\gamma\delta$ cells and Peyer’s Patches.
Experimental Biology 99, Washington, D. C., 1999年4月.
- 5) 石川博通.
<シンポジウム; 粘膜免疫—最近の展開>腸管上皮細胞間T細胞 (IEL) の機能と発達分化.
第9回日本口腔粘膜学会総会, 横須賀, 1999年6月5日
- 6) 石川博通.
<招待講演>腸管上皮間T細胞 (IEL) の機能と発達分化.
第3回GI Cell Biology研究会, 東京, 1999年6月9日

- 7) Hiromichi Ishikawa.
 < symposium ; Interaction between epithelial cells and lymphocytes > Gut cryptopatch-deficient mice lack extrathymic T cells and activation of $\gamma\delta$ T cells in TCR α gene knockout mice.
10th International Congress of Mucosal Immunology, Amsterdam, 1999年6月28日
- 8) Y. Kai, I. Takahashi, T. Ito, H. Matsuda, K. Suzuki, H. Ishikawa, H. Kiyono.
 < symposium ; IBD : Fundamental aspects and animal models > Selected V β subset of Th2 type CD4⁺ T cells mediates development of colitis in mice with a truncated common γ chain.
10th International Congress of Mucosal Immunology, Amsterdam, 1999年6月30日
- 9) 石川博通.
 < シンポジウム ; 体表面免疫と炎症性疾患 > 腸管上皮間T細胞の発達分化と消化管粘膜炎症の制御.
第20回日本炎症学会, 仙台, 1999年7月15日
- 10) 鈴木健司, 種田貴徳, 石丸薫, 一松収, 浜田裕公, 石川博通.
 マウス腸管リンパ組織 cryptopatch と上皮間T細胞.
第36回消化器免疫学会総会, 仙台, 1999年7月23日
- 11) 鈴木健司, 石丸薫, 浜田裕公, 一松収, 石川博通.
 < Session ; Enviroment and differentiation > 腸管上皮間T細胞 (IEL) の発達分化と cryptopatches.
第9回 Kyoto T Cell Conference, 京大会館, 1999年10月8日
- 12) 石川博通, 鈴木健司, 種田貴徳.
 < シンポジウム ; 消化管と免疫 : 最近の進歩 > 特異な腸管リンパ装置 (cryptopatch) とその役割.
第27回日本臨床免疫学会総会, 自治医科大学, 1999年10月8日
- 13) Yutaka Kanamori and Hiromichi Ishikawa.
 < symposium ; Mucosal immune system for the induction of tolerance > New intestinal lymphoid tissue "cryptopatches".
第29回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 1999年12月1日
- 14) 石川博通.
 < 特別講演 ; 座長 > 私の提唱する未来免疫学.
第339回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会, 霞ヶ関, 2000年1月29日

5. T細胞上ホーミングレセプター発現を指標とする食物アレルギー性の評価に関する研究

A. 研究目的

食物アレルギー特異的 IgE 抗体の検出は即時型の食物アレルギーの診断には有効であっても、非即時型のアレルギー反応の予測においては信頼性に乏しい。免疫関連病者用食品を評価する上でも、食物アレルギー特異的 IgE 抗体以外のアレルギー診断における検査法の確立が望まれる。そこで本研究では食物アレルギーに対する患者の反応性を *in vitro* において評価しうる診断法の確立を目的として、末梢血 T 細胞上の $\alpha E\beta 7$ インテグリンおよび cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) の発現を解析した。

B. 研究方法

末梢血単核球をアレルギーで刺激とともに培養し、フローサイトメトリーにより T 細胞上の $\alpha E\beta 7$ インテグリンおよび CLA の発現を解析した。

C. 研究結果

食物アレルギー摂取でアトピー性皮膚炎が惹起される患者では、当該アレルギー刺激で末梢血 T 細胞上の CLA 発現が認められた。同様に食物アレルギー摂取で下痢を惹起する患者では当該アレルギー刺激で末梢血 T 細胞上の $\alpha E\beta 7$ インテグリン発現が認められた。食物アレルギー刺激による CLA および $\alpha E\beta 7$ インテグリン発現は、当該

アレルギーに対する耐性が獲得されて摂取できるようになると消失した。

D. 考察

食物アレルギー患者では傷害臓器に対応したアレルギー刺激 T 細胞上ホーミングレセプターの発現が疾患活動性に強く関与している可能性が示唆された。本研究は病者用食品が実際にアレルギー患者に使用できるかを予測しうる検査法として、特に食物アレルギー特異的 IgE 抗体がしばしば陰性である新生児、乳児において有用であると考えられる。

E. 結論

食物アレルギー刺激による末梢血 T 細胞上の CLA および $\alpha E\beta 7$ インテグリン発現誘導の有無は食物アレルギーおよび食物のアレルギー性評価に有用と考えられる。

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

腸管免疫細胞を利用した免疫関連病者用食品の評価法の開発のための基礎研究

分担研究者 石川博通 慶應義塾大学医学部助教授

免疫関連病者用食品の開発，評価法の確立のための基礎研究として、新しく発見した腸管リンパ組織クリプトパッチにおけるリンパ球発達分化機構について解析した。その結果、胸腺非依存性 IEL の発達分化が、腸管上皮細胞が産生するサイトカイン、主として IL-7、の存在下に骨髄由来幹細胞→CD11c⁺樹状ストローマ集積→同集積での c-kit⁺CD3⁻ IEL 前駆細胞の発達分化→c-kit⁺CD3⁻ IEL の出現→成熟 c-kit⁺CD3⁺ IEL への最終発達分化と進行することが明らかとなった。腸管免疫関連病者、すなわち、食品アレルギーや各種炎症性腸疾患（IBD）における CP や IEL を解析し、その機能を研究することによって、これら疾患の病者用食品の開発とその評価法の確立に繋がることが期待される。

A. 研究目的

平均的成人の粘膜表面積は 400m²に達し、その約 80%を占めるのが腸管粘膜である。食餌由来の雑多な外来抗原やトキシン、アレルギー起因物質、病原微生物などが絶え間なく侵入する腸管は最も危険な生体部位であり、普段から全末梢リンパ球の 60~70%が集結する腸管免疫組織（GALT）によって防御されている。マウスの GALT には独特のリンパ球発生器官が存在することを見出し、cryptopatch（CP）と命名した。この発生器官におけるリンパ球発達分化機構を追究することによって GALT の特殊性について分子・遺伝子レベルでの解明を行い、腸管粘膜免疫防御の制御に向けた技術の確立を目ざし、これによって免疫関連病者用食品の評価法の開発を目的

とする。

B. 研究方法

T 細胞抗原レセプター（TCR）や各種サイトカイン遺伝子を gene targeting の手法で破壊したミュータントマウスの腸管リンパ組織（主として CP や上皮細胞間 T 細胞、すなわち IEL）の発達分化や腸管粘膜免疫防御を追究する。

（倫理面への配慮）

実験動物の取り扱いはすべて大学の定めるガイドラインを順守して行った。

C. 研究結果

1) マウス小腸上皮細胞層に分布する上皮細胞間 T 細胞（intestinal intraepithelial T lymphocytes；IEL）の

総数は全末梢 T 細胞の～50%にも達することが分かっており、 $\alpha\beta$ 型の T 細胞抗原受容体 (TCR) を保持する $\alpha\beta$ -IEL と解明の遅れている $\gamma\delta$ 型 TCR を保持する $\gamma\delta$ -IEL 約半数ずつで構成されている。さらに $\gamma\delta$ -IEL の大多数と $\alpha\beta$ -IEL の約 30%は IEL 独特の CD8 $\alpha\alpha$ 分子を発現するが、これらの IEL は胸腺非依存性に腸管局所で発達分化し、粘膜防御の役割を遂行して死滅すると考えられている。

われわれはマウス腸管粘膜固有層の陰窩に未分化 T リンパ球の集積する新しい腸管リンパ組織を見出し、これを cryptopatch (CP) と命名した。前年度までの研究によって CP が IEL 前駆細胞の発達分化する腸管局所であることを提示した。本年度は、サイトカインレセプター γ 鎖ミュータント (γ^+) マウス腸管には CP や CD8 $\alpha\alpha$ IEL が検出限界以下であることに着目し、正常マウス骨髄細胞 (WT-BM) を 6-Gy X 線照射 (6-Gy) 及び X 線非照射 (0-Gy) γ^+ マウス (host) に移入して作製した BM キメラマウスでの CP 組織形成や IEL 発達分化を追究した。CP は c-kit $^+$ リンパ球 (LC) と CD11c $^+$ 樹状ストローマ細胞 (DC) で構成されるが、BM \rightarrow 6-Gy γ^+ キメラマウスの CP 再構築は BM 由来 c-kit $^+$ LC と CD11c $^+$ DC から成る CP が形成され、BM 由来 CD8 $\alpha\alpha$ $^+$ IEL が発達分化したのに対し、BM \rightarrow 0-Gy γ^+ キメラマウスで

は BM 由来 c-kit $^+$ LC と γ^+ host 由来 CD11c $^+$ DC から成る CP が形成され、BM 由来 CD8 $\alpha\alpha$ $^+$ IEL が発達分化した。この知見は γ^+ マウス CD11c $^+$ DC が正常に機能し得ることを提示すると共に、CP 内での IEL 前駆細胞発達分化機構解明に向けて重要と考えられる。

- 2) IL-7receptor (IL-7R) からのシグナルはパイエル板組織形成や $\gamma\delta$ T 細胞発達分化に必須であることは無論のこと、CP や胸腺の正常な発達分化に重要であることが分かっている。IL-7 $^+$ 及び IL-7R $^+$ マウスは CP が激減するとともに $\gamma\delta$ -IEL は消失する。腸管脂肪酸結合タンパク遺伝子のプロモーターを使用することによって腸管上皮細胞のみが IL-7 を産生するトランスジェニック IL-7 $^+$ (iFABP-IL7) マウスを作製して、CP と IEL を検索した。その結果、CP は正常マウスの約半数まで回復するとともに $\gamma\delta$ -IEL の発達分化が確認された。一方、この iFABP-IL7 マウスでは、表皮内の $\gamma\delta$ -dEC をはじめ胸腺や脾臓の $\gamma\delta$ T 細胞は検出限界以下であった。この新知見は $\gamma\delta$ -IEL が腸管粘膜局所で発達分化することを立証するとともに、これに CP が重要であることを提示すると考えられる。

D. 考察

すべての $\gamma\delta$ -IEL と多数の $\alpha\beta$ -IEL は胸腺非依存性に腸管粘膜局所で発達分化するが、本研究によって CP が IEL 発達分化の場としての第一次リンパ

組織であることが明確となった。腸管免疫関連病者、すなわち、食品アレルギーや各種炎症性腸疾患 (IBD) における CP や IEL を解析し、その機能を研究することによって、これら疾患の治療法追究が食事による治療法開発へと繋がることが期待される。

E. 結論

胸腺非依存性 IEL の発達分化が、腸管上皮細胞が産生するサイトカイン、主として IL-7、の存在下に骨髄由来幹細胞→CD11c⁺樹状ストローマ集積→同集積での c-kit⁺ CD3⁻ IEL 前駆細胞の発達分化→c-kit⁺ CD3⁻ IEL の出現→成熟 c-kit⁺ CD3⁺ IEL への最終発達分化と進行することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto, S., Sato, Y., Shimizu, T., Halder, R. C., Oya, H., Bannai, M., Suzuki, K., Ishikawa, H., Hatakeyama, K. and Abo, T.
Consistent infiltration of thymus-derived T cells into the parenchymal space of the liver in normal mice.
Hepatology 30 (No. 3) : 705-7013, 1999.
- 2) Kohyama, M., Nanno, M., Kawaguchi-Miyashita, M., Shimada, S., Watanabe, M., Hibi, T., Kaminogawa, S. and Ishikawa, H.
Cytolytic and IFN γ -producing activities of $\gamma\delta$ T cells in the mouse intestinal epithelium are T cell receptor- β chain dependent.
Proceedings of the National Academy of Sciences USA 96 (No. 13) : 7451-7455, 1999.
- 3) Saito, H., Kanamori, Y. and Ishikawa, H.
New gut associated lymphoid tissues "cryptopatches" breed murine intestinal intraepithelial T cells. In: The 10th International Congress of Immunology. Edited by Talwar, G. P., Nath, I., Ganguly, N. K. and Rao, K. V. S.
Monduzzi Editore, Italy 1615-1619, 1999.
- 4) Nanno, M., Kanamori, Y., Saito, H., Oida, T. and Ishikawa, H.
Cryptopatches : Newly identified murine gut-associated lymphoid tissues.
Mucosal Immunology Update 7 (No. 3) : 7-9, 1999.
- 5) Ishikawa, H., Saito, H., Suzuki, K., Oida, T. and Kanamori, Y.
New gut-associated lymphoid tissues "cryptopatches" breed murine intestinal intraepithelial T cell precursors.
Immunologic Research 20 (No. 3) : 243-250, 1999.
- 6) Oida, T., Suzuki, K., Nanno, M., Kanamori, Y., Saito, H., Kubota, E., Kato, S., Itoh, M., Kaminogawa, S. and Ishikawa, H.

- Role of gut cryptopatches in early extrathymic maturation of intestinal intraepithelial T cells.
The Journal of Immunology 2000 (in press).
- 7) Kanamori, Y., Suzuki, K., Oida, T. and Ishikawa, H.
 Gut-associated lymphoid tissue “Cryptopatches” and intrainestinal development of murine T cells.
Mucosal Immunology Update 2000 (in press).
- 8) Laky, K., Lefrançois, L., Lingenheld, E. G., Ishikawa, H., Lewis, J. M., Olson, S., Suzuki, K., Tigelaar, R. E. and Puddington, L.
 Enterocyte expression of IL-7 induces development of $\gamma\delta$ T cells and Peyer’s patches.
 The Journal of Experimental Medicine 2000 (in press).
- 9) 齊藤恒, 鈴木健司, 金森豊, 石川博通. クリプトパッチ (cryptopatches) における腸管上皮細胞間T細胞 (IEL) の発達分化【Visual Review】感染炎症免疫 (*Infection Inflammation Immunity*) 29 (No.1) : 28-35, 1999年3月.
- 10) 南野昌信, 石川博通.
 モデルマウスを用いた炎症性腸疾患発症機序の解明発展
 免疫1999 - 2000 (臨時増刊号 *Molecular Medicine*) 36 : 180-188, 1999年7月.
- 11) 金森豊, 石川博通. 腸管上皮細胞間T細胞の発達分化【増刊 免疫研
- 究の新たな展開, シグナル伝達・アポトーシスから免疫疾患まで】
 実験医学 (増刊 免疫研究の最前線 ‘99) 17 (No.12) : 44 (1430) - 48 (1434), 1999年8月.
- 12) 南野昌信, 鈴木健司, 石川博通.
 腸管上皮細胞間リンパ球 (IEL) の発達分化
 最新医学 (増刊号 臨床遺伝学 ‘99 - 免疫研究の最前線) 54 : 48 (2168) - 55 (2175), 1999.
- 13) 南野昌信, 石川博通.
 腸管上皮間T細胞と腸管粘膜免疫応答【食物アレルギーの最前線】
 別冊・医学のあゆみ 16-19, 1999.
- 14) 南野昌信, 石川博通.
 GALTの構成細胞とその機能【特集 免疫臓器としての腸】
Surgery Frontier 6 (No.4) : 14 (274) - 19 (379), 1999.
- 15) 浜田裕公, 石川博通.
 Oral toleranceとその誘導機序【特集 消化管と免疫—最近の話題】
臨床消化器内科 15 (No.3) : 281 - 289, 2000.
- 16) 鈴木健司, 種田貴徳, 石川博通.
 粘膜免疫とクリプトパッチ【特集 粘膜免疫：最近の進展と疾患】
 炎症と免疫 8 (No.2) : 52 (168) - 55 (171), 2000.
2. 学会発表
- 1) Kenji Suzuki, Kaori Ishimaru, Hiromichi Ishikawa and Takatoku Oida.

Mice lacking gut cryptopatches fail to generate major CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ intraepithelial T lymphocytes.

Experimental Models of Immune Dysregulation and Mucosal Inflammation: Impact on the Understanding and Treatment of the Inflammatory Bowel Diseases

KEYSTONE SYMPOSIA on Molecular & Cellular Biology, USA, 1999年1月.

2) 石川博通.

<特別講演>腸管上皮細胞間T細胞 (IEL) の機能と発達分化.

第6回東日本IBD病因・病態フォーラム, 新宿, 1999年3月.

3) 石川博通.

<シンポジウム; 消化管への新しい形態学的アプローチについて>腸管上皮間T細胞の機能と発達分化.

第127回日本獣医学会, 淵野辺, 1999年4月.

4) K. Laky, L. Lefrancois, H. Ishikawa, S. Olson, K. Suzuki, K. Ishimaru, and L. Puddington.

Enterocyte expression of IL-7 induces development of TCR $\gamma\delta$ cells and Peyer's Patches.

Experimental Biology 99, Washington, D. C., 1999年4月.

5) 石川博通.

<シンポジウム; 粘膜免疫—最近の展開>腸管上皮細胞間T細胞 (IEL) の機能と発達分化.

第9回日本口腔粘膜学会総会, 横須賀, 1999年6月5日

6) 石川博通.

<招待講演>腸管上皮間T細胞 (IEL) の機能と発達分化.

第3回GI Cell Biology研究会, 東京, 1999年6月9日

7) Hiromichi Ishikawa.

<symposium; Interaction between epithelial cells and lymphocytes>Gut cryptopatch-deficient mice lack extrathymic T cells and activation of $\gamma\delta$ T cells in TCR α gene knockout mice.

10th International Congress of Mucosal Immunology, Amsterdam, 1999年6月28日

8) Y. Kai, I. Takahashi, T. Ito, H. Matsuda, K. Suzuki, H. Ishikawa, H. Kiyono.

<symposium; IBD: Fundamental aspects and animal models>Selected V β subset of Th2 type CD4⁺ T cells mediates development of colitis in mice with a truncated common γ chain.

10th International Congress of Mucosal Immunology, Amsterdam, 1999年6月30日

9) 石川博通.

<シンポジウム; 体表面免疫と炎症性疾患>腸管上皮間T細胞の発達分化と消化管粘膜炎症の制御.

第20回日本炎症学会, 仙台, 1999年7月15日

10) 鈴木健司, 種田貴徳, 石丸薫, 一松収, 浜田裕公, 石川博通.

- マウス腸管リンパ組織 cryptopatch
と上皮間T細胞.
第36回消化器免疫学会総会, 仙台,
1999年7月23日
- 11) 鈴木健司, 石丸薫, 浜田裕公, 一
松収, 石川博通.
< Session ; Enviroment and
differentiation > 腸管上皮間T細胞
(IEL) の発達分化と cryptopatches.
第9回 Kyoto T Cell Conference, 京大
会館, 1999年10月8日
- 12) 石川博通, 鈴木健司, 種田貴徳.
< シンポジウム ; 消化管と免疫 :
最近の進歩 > 特異な腸管リンパ装
置 (cryptopatch) とその役割.
第27回日本臨床免疫学会総会, 自
治医科大学, 1999年10月8日
- 13) Yutaka Kanamori and Hiromichi
Ishikawa.
< symposium ; Mucosal immune
system for the induction of tolerance >
New intestinal lymphoid tissue
"cryptopatches".
第29回日本免疫学会総会・学術集
会, 京都, 1999年12月1日
- 14) 石川博通.
< 特別講演 ; 座長 > 私の提唱する
未来免疫学.
第339回日本無菌生物ノートバイ
オロジー学会総会, 霞ヶ関, 2000
年1月29日

T細胞上ホーミングレセプター発現を指標とする食物アレルギー性の評価に関する研究

分担研究者 河野陽一 千葉大学小児科・教授

研究要旨

食物特異的IgE抗体を検出は即時型食物アレルギーの診断には有効であっても、非即時型アレルギー反応の予測においては信頼性に乏しい。さらに、乳児期の食物アレルギーでは、しばしば食物特異的IgE抗体は検出されない。以上のことから、食物特異的IgE抗体以外のアレルギー診断における検査の確立が望まれる。本研究では、T細胞の腸管および皮膚へのホーミングに関連すると考えられる $\alpha\text{E}\beta 7$ インテグリンおよびcutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)発現の有無を食物アレルギー患者を対象として解析した。その結果、食物アレルギー摂取でアトピー性皮膚炎が惹起される患者では、当該食物アレルギーの刺激により末梢血T細胞上にCLA発現が認められた。同様に、食物アレルギー摂取で下痢を惹起する患者では、食物アレルギー刺激で末梢血T細胞上に $\alpha\text{E}\beta 7$ インテグリンの発現が誘導された。食物アレルギー刺激によるT細胞上のCLAおよび $\alpha\text{E}\beta 7$ インテグリン発現は、当該アレルギーに対する耐性が獲得されて摂取できるようになると消失した。以上の結果から、食物アレルギー刺激による末梢血T細胞上のホーミングレセプター発現はアレルギー診断に有用であるのみならず、食物アレルギー患者に対して用いる病者用食品が患者にとってアレルギー性を有するか否かの評価にも有意義な検査法であることが示唆された。

A. 研究目的

食物アレルギーを対象とした病者用食品が実際にアレルギー患者に使用できるかを予測しうる臨床検査法の確立は重要である。従来はその指標としてアレルギー特異的IgE抗体の有無や抗体価が測定されてきた。しかしながら、新生児・乳児における食物アレルギーの発症時にはしばしば血清中の食物アレルギー特異的IgE抗体は陰性であり、発症後一定の期間の後に陽性となることが知られている。さらに、非即時型アレルギー反応の予測には、アレルギー特異的IgE抗体の測定は有用ではない。また、食物アレルギー特異的IgE抗体が陽性であっても年長児などでは摂取できることも少なくない。以上の結果は、食物アレルギーおよび病者用食品に対する食物アレルギー患者の免疫反応を評価する新たな検査法が必要であることを示している。そこで、本研究では、食物アレルギーに対する患者の反応性をin vitroにおいて評価しうる診断法の確立を目的として、末梢血T細胞上の $\alpha\text{E}\beta 7$ インテグリンおよびcutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)の発現を解析した。これらの分子はそれぞれ、T細胞の腸管および皮膚へのホーミングに関与すると考えられている。

B. 研究方法

ヘパリン末梢血から分離した単核球を、主要牛乳蛋白である αs -カゼインや鶏卵の主要なアレルギーであるオボアルブミン(OVA)とともに7日間培養した。培養終了後に細胞を回収し、第1抗体として抗CLA抗体または抗 αE 抗体を反応させ、続いて検出抗体としてFITC標識した第2抗体を用いて染色した。さらに、PE標識抗ヒトCD3抗体を反応させ、フ

ローサイトメトリーにより、T細胞における $\alpha\text{E}\beta 7$ インテグリンおよびCLAの発現を解析した。

C. 研究結果

牛乳あるいは鶏卵アレルギーによりアトピー性皮膚炎が増悪する食物アレルギー患者の末梢血単核球を食物アレルギーで刺激するとT細胞上にCLA発現が認められた(図1)。一方、食物アレルギー摂取で下痢をきたす腸管アレルギー患者では、食物アレルギー刺激で末梢T細胞上に $\alpha\text{E}\beta 7$ インテグリンの発現が誘導された(図2)。CLA発現はアレルギーとなっている食物に耐性が獲得されて摂取が可能となると消失した(図3)。

D. 考察

食物アレルギー患者では、傷害臓器に対応したアレルギー刺激T細胞上ホーミングレセプターの発現が疾患活動性に強く関与している可能性が示唆された。本検査法は、食物アレルギーを対象とした病者用食品が実際にアレルギー患者に使用できるかを予測しうる検査としても有用である可能性がある。特に、食物アレルギー特異的IgE抗体がしばしば陰性である新生児・乳児における食物アレルギーの治療食を決定する上で、本検査法の意義が大きいと考えられる。

E. 結論

食物アレルギー刺激による末梢血T細胞上の $\alpha\text{E}\beta 7$ インテグリンおよびCLAの発現の誘導の有無は、食物アレルギーの診断ならびに食物のアレルギー性の評価に有用と考えられる。

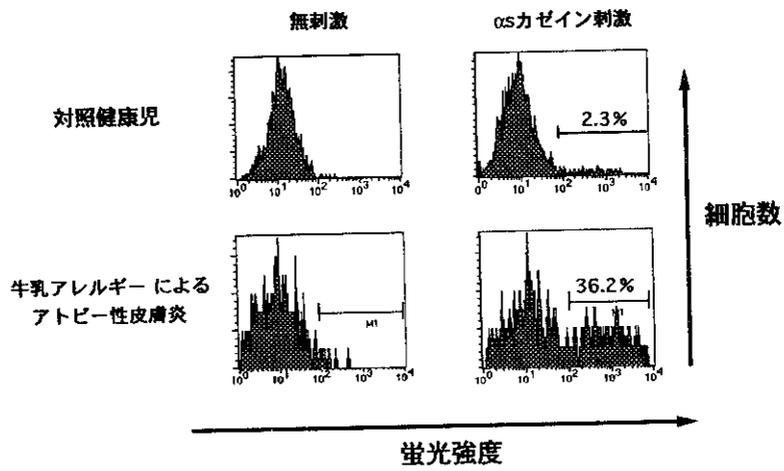


図1 牛乳タンパク 刺激による末梢血T細胞上CLA発現

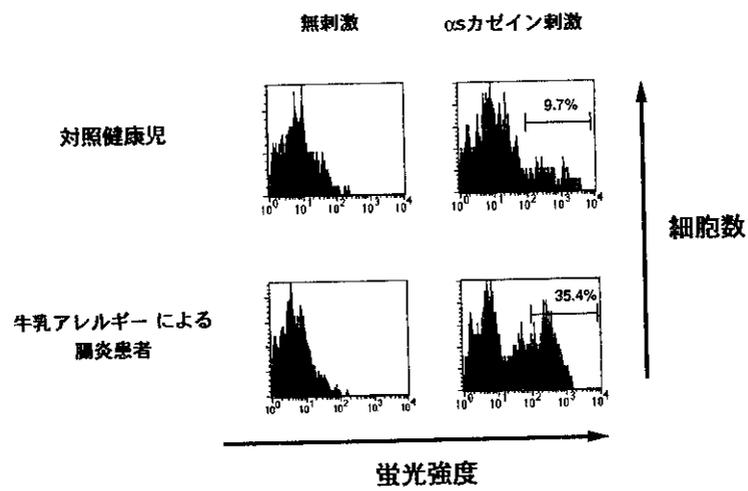


図2 牛乳タンパク 刺激による末梢血T細胞上 αEβ7インテグリン発現

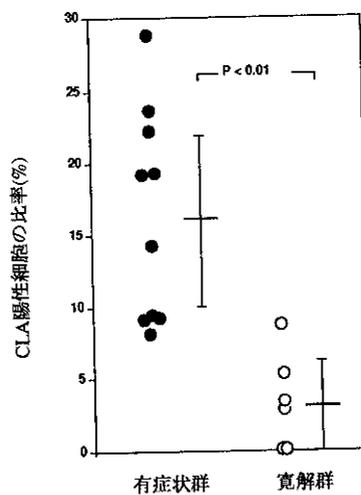


図3 有症状期と寛解期における食物アレルギー刺激T細胞上CLA発現