

- signaling 3 (SOCS3/CIS3/SSI3) in CD28-mediated interleukin 2 production. *J. Exp. Med.* 197: 425–436.
26. Seki, Y., H. Inoue, N. Nagata, K. Hayashi, S. Fukuyama, K. Matsumoto, O. Komine, S. Hamano, K. Himeno, K. Inagaki-Ohara, et al. 2003. SOCS-3 regulates onset and maintenance of T<sub>H</sub>2-mediated allergic responses. *Nat. Med.* 9: 1047–1054.
27. Nosaka, T., T. Kawashima, K. Misawa, K. Ikuta, A. L. Mui, and T. Kitamura. 1999. STAT5 as a molecular regulator of proliferation, differentiation and apoptosis in hematopoietic cells. *EMBO J.* 18: 4754–4765.
28. Yoshimoto, T., M. Furuhashi, S. Kamiya, M. Hisada, H. Miyaji, Y. Magami, K. Yamamoto, H. Fujiwara, and J. Mizuguchi. 2003. Positive modulation of IL-12 signaling by sphingosine kinase 2 associating with the IL-12 receptor  $\beta$ 1 cytoplasmic region. *J. Immunol.* 171: 1352–1359.
29. Gatto, L., C. Berlato, V. Poli, S. Tininini, I. Kinjyo, A. Yoshimura, M. A. Cassatella, and F. Bazzoni. 2004. Analysis of SOCS-3 promoter responses to interferon  $\gamma$ . *J. Biol. Chem.* 279: 13746–13754.
30. Cohnen, S. J., D. Sanden, N. A. Cacalano, A. Yoshimura, A. Mui, T. S. Migone, and J. A. Johnston. 1999. SOCS-3 is tyrosine phosphorylated in response to interleukin-2 and suppresses STAT5 phosphorylation and lymphocyte proliferation. *Mol. Cell Biol.* 19: 4980–4988.
31. Bach, E. A., M. Aguet, and R. D. Schreiber. 1997. The IFN $\gamma$  receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu. Rev. Immunol.* 15: 563–591.
32. Kamimura, D., K. Ishihara, and T. Hirano. 2003. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 149: 1–38.
33. Chin, Y. E., M. Kitagawa, W. C. Su, Z. H. You, Y. Iwamoto, and X. Y. Fu. 1996. Cell growth arrest and induction of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 WAF1/CIP1 mediated by STAT1. *Science* 272: 719–722.
34. Bromberg, J. F., C. M. Horvath, Z. Wen, R. D. Schreiber, and J. E. Darnell, Jr. 1996. Transcriptionally active Stat1 is required for the antiproliferative effects of both interferon  $\alpha$  and interferon  $\gamma$ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 7673–7678.
35. Bromberg, J. F., M. H. Wrzeszczynska, G. Devgan, Y. Zhao, R. G. Pestell, C. Albanese, and J. E. Darnell, Jr. 1999. Stat3 as an oncogene. *Cell* 98: 295–303.



## 解説

# 絨毛 M 細胞の形態と機能\*

吉田 理人<sup>\*\*</sup>,<sup>\*\*\*</sup> 五十嵐 脩<sup>\*\*</sup>,<sup>\*\*\*</sup>  
寺原 和孝<sup>\*\*</sup>,<sup>\*\*\*</sup> 清野 宏<sup>\*\*</sup>,<sup>\*\*\*</sup>

**Key Words** : M cell, villous M cell, Peyer's patch, secretory IgA, mucosal immunity

### はじめに

腸管や呼吸器をはじめとする広大な粘膜面は、細菌やウイルス、食物抗原、アレルゲンなどのさまざまな外来抗原に常に曝されている。管腔上皮から取り込まれるこれら外来抗原に対する特異的な免疫応答を司るシステムが粘膜免疫機構である。また、病原性微生物に対しては、上皮細胞間の密着結合による物理的防御壁の形成、杯細胞の産生する粘液による病原体の排除、パネート細胞による抗菌ペプチドの産生などの自然免疫系防御システムも、腸管には備わっている。抗原特異的な免疫応答を誘導するためには抗原が粘膜免疫系に取り込まれ、提示されなければならないが、腸管には M 細胞という、抗原を取り込む特殊な細胞が腸管関連リンパ組織 (GALT; gut-associated lymphoid tissue) の一つであるパイエル板を覆う上皮層 (FAE; follicle-associated epithelium) に存在する。M 細胞により取り込まれた抗原は、その下部に存在する抗原提示細胞を介してリンパ球に提示され、全身における抗原特異的な IgG の産生のみならず、最終的に抗原特異的な IgA の管腔粘膜への分泌が起こる。このように、M 細胞は抗原特異的な粘膜免疫誘導のための門戸として考えられている。

近年、われわれはマウスの小腸において形態

的、機能的にパイエル板 FAE の M 細胞に類似した細胞が、絨毛上皮層にも存在することを発見し、「絨毛 M 細胞」と名づけた<sup>1)</sup>。本稿ではパイエル板 FAE の M 細胞とあわせて、絨毛 M 細胞の形態と機能、および粘膜免疫応答への関連性について概説する。

### パイエル板 FAE M 細胞の形態と機能

M 細胞の形態は他の腸管上皮細胞のそれとは著しく異なる (図 1)。M 細胞は微絨毛が短く不規則な構造をしており、管腔膜表面を覆う粘液層が周囲の上皮細胞と比べて薄い<sup>2)</sup>。このうち微絨毛の形成不全に関しては、アクチン結合蛋白質であるピリンが、上皮細胞では微絨毛に局在しているが、FAE の M 細胞では細胞質全体に分散していることと関連性があると考えられている<sup>3)</sup>。M 細胞におけるこのような特徴的なピリンの分布は、堅固なアクチン骨格の形成を抑えて管腔膜の流動性・柔軟性を保持し、その結果、M 細胞は抗原取り込み能を獲得したのかもしれない。一方、M 細胞の基底膜側には著しい陥入がみられ、B 細胞や T 細胞、樹状細胞が入り込んだ「ポケット構造」が観察される。

生化学的、分子生物学的な観点からみても、M 細胞は上皮細胞とは大きく異なる点がいくつも見受けられる。たとえば、吸収上皮細胞にみ

\* The morphology and functions of the villous M cells.

\*\* Masato YOSHIDA, Osamu IGARASHI, Ph.D., Kazutaka TERAHARA, Ph.D. & Hiroshi KIYONO, D.D.S., Ph.D.: 東京大学医科学研究所感染・免疫大部門炎症免疫学分野 [〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1]; Division of Mucosal Immunology, Department of Microbiology and Immunology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, JAPAN

\*\*\* 科学技術振興機構

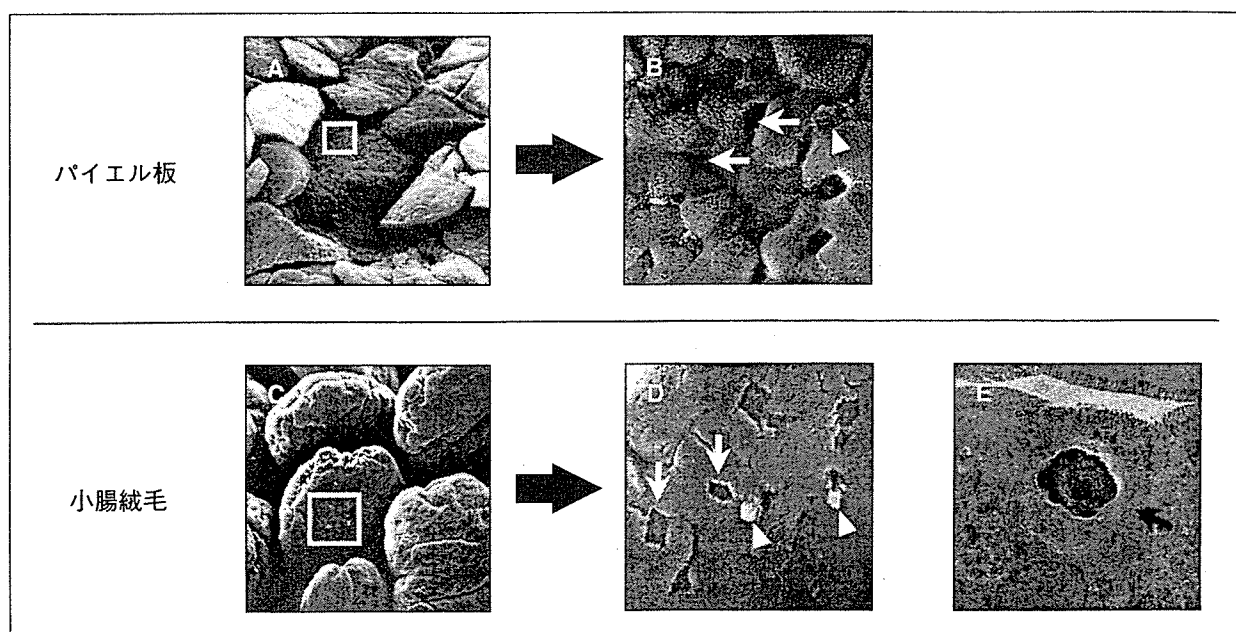


図1 マウスパイエル板FAEのM細胞と絨毛M細胞の走査・透過電子顕微鏡像

B, D はそれぞれ A, C の四角で囲まれた部分の拡大図。M細胞(白矢印)は微絨毛の形成が不完全であるため、周囲の上皮細胞に埋もれたかたちで存在している。杯細胞( $\Delta$ 印)はパイエル板FAEにもみられるが、その存在頻度は小腸絨毛上皮層よりも低い。Eは絨毛M細胞のポケット構造。内部には浸潤したリンパ球(黒矢印)がみられる。(文献<sup>1)</sup>より引用改変)

られるアルカリフォスファターゼなどの栄養物の分解・吸収に関与する膜酵素蛋白質の発現が、M細胞にはほとんどみられないことがあげられる<sup>2)</sup>。抗原取り込みに関しては、M細胞はエンドサイトーシスやピノサイトーシスにより抗原を小胞内に取り込むといわれている。M細胞にはリソソームが少ない、もしくは存在するが、抗原を含む小胞はリソソームと融合することはほとんどないことが知られている<sup>2)</sup>。M細胞管腔膜の形態的な特徴とあわせて、このような特徴は、M細胞が抗原取り込み専門細胞として特殊に分化した細胞であることを裏づけている。

M細胞には上述のような形態的、機能的特徴に加え、特徴的な分子の発現パターンを示すことが知られている。たとえば、マウスパイエル板FAEのM細胞は $\alpha(1-2)$ -フコースを認識するレクチンUEA-1 (*Ulex europaeus agglutinin-1*)と反応性を示すことが知られており、ヒトをはじめとする各種動物種においてもM細胞の管腔膜表面に特異的に発現している分子や糖鎖構造はいくつか報告されている<sup>2)4)5)</sup>。逆に言えば、このようなM細胞管腔膜における特異的な分子の発現パターンは、M細胞が病原体の特異的、選択的な

侵入経路として利用されうる要因になっているのかもしれない。たとえば、小腸腸管上皮細胞では基底膜に局在するインテグリン $\beta 1$ は、マウスのM細胞では管腔膜にも存在する。腸炎をひき起こす*Yersinia pseudotuberculosis*は、菌体表面にインペイシンを発現し、M細胞管腔面のインテグリン $\beta 1$ との特異的な結合を介して侵入する<sup>6)</sup>。M細胞に侵入した*Yersinia*は上皮細胞基底膜に局在するインテグリン $\beta 1$ を介して、次々と隣接上皮細胞へ伝播していく。M細胞の細胞内消化が未発達であるという点も、M細胞が病原体にとってかっこうの侵入門戸である一つの理由を示しているのかもしれない。

### 絨毛M細胞の形態と機能

これまでM細胞は粘膜関連リンパ組織を覆う上皮層 (FAE) のみに存在するとされてきたが、果たしてそうであろうか。これまでウサギパイエル板FAEに隣接した絨毛末端上皮層にはM細胞と組織形態学的に類似した細胞が存在すること、およびマウスの小腸絨毛上皮層にもUEA-1<sup>+</sup>細胞が存在することが報告されている<sup>7)8)</sup>。そこでわれわれは新たなM細胞サブセットの可能性

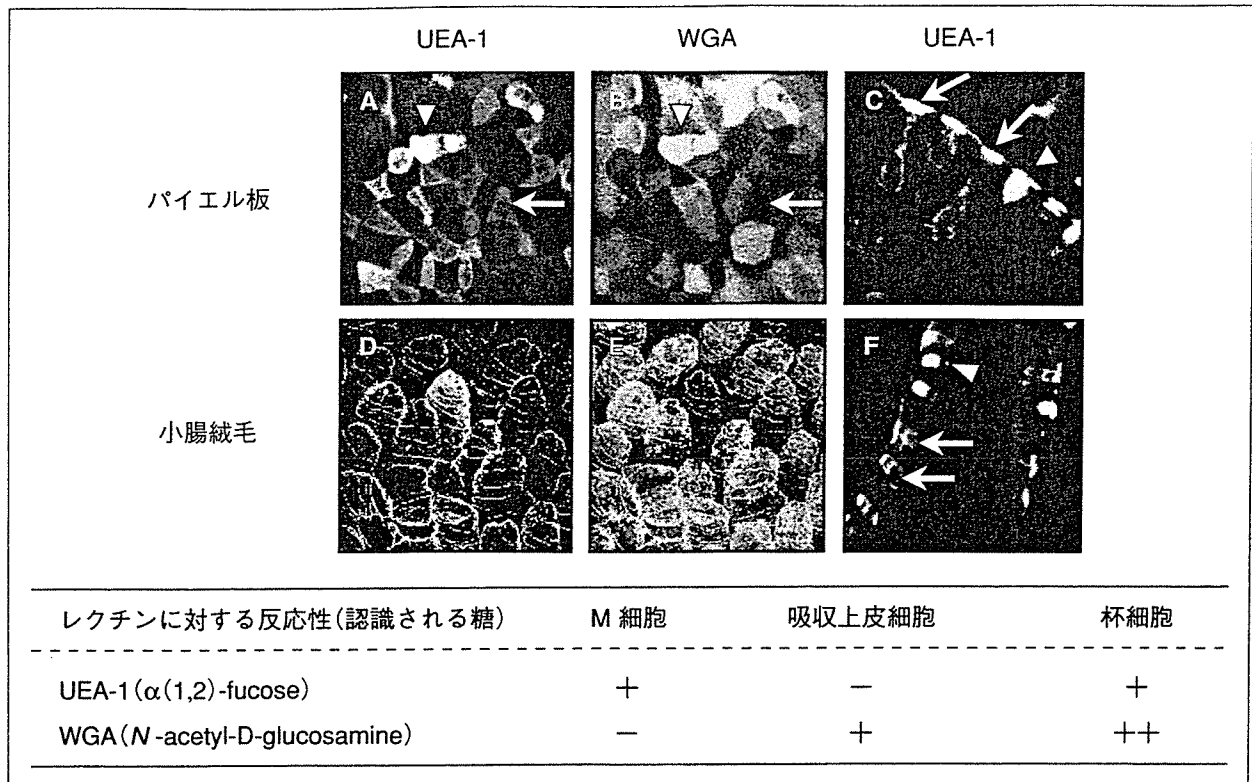


図2 マウスパイエル板FAEのM細胞と絨毛M細胞の共焦点顕微鏡像

A, B, D, Eはホールマウント染色像. M細胞(矢印)のほかに杯細胞( $\Delta$ 印)もUEA-1に対する反応性を示すが, WGAに対する反応性の有無により杯細胞と区別される. C, FはUEA-1染色を施した組織切片像. 杯細胞は細胞上部の粘液中に強く染まるが, M細胞は管腔膜の部分がとくに強く染まり, ポケット構造の存在が確認できる.

(文献<sup>9)</sup>より引用改変)

について, UEA-1の反応性を手がかりに詳細に解析した結果, 形態的, 機能的にM細胞と相同な細胞(絨毛M細胞)が一部の絨毛の先端部に局在することを見出した(図1, 2)<sup>11</sup>. つまり, 絨毛M細胞はパイエル板FAEのM細胞と同様に微絨毛の形成が不完全でアルカリフォスファターゼの発現がみられず, 基底膜側にはリンパ球を包むポケットがみられた. また絨毛M細胞は*Salmonella typhimurium*, *Yersinia pseudotuberculosis*および*Yersinia*インベインシを発現させた大腸菌に対する取り込み能を有することが, 腸管結紮モデルを用いた実験により明らかになった<sup>11</sup>. これらの事実は, M細胞がリンパ系組織だけでなく, 結合組織を覆う上皮層にも存在するということを意味する.

### M細胞による抗原取り込みと粘膜免疫応答

誘導組織であるパイエル板FAEのM細胞から取り込まれた抗原は, ポケット内もしくは直下に存在する樹状細胞に手渡される. その後, こ

の樹状細胞はパイエル板傍濾胞域に移行し, T細胞に抗原を提示する. 抗原感作を受けて活性化したCD4<sup>+</sup>T細胞は, パイエル板胚中心に存在する抗原特異的なB細胞の $\mu$ 鎖から $\alpha$ 鎖へのクラススイッチや抗体の親和性成熟を誘導する<sup>9</sup>. このようにして誘導された抗原特異的なIgA<sup>+</sup>B細胞やCD4<sup>+</sup>T細胞は, 所属リンパ節である腸間膜リンパ節を介して血液循環系に入り, 腸管ではパイエル板高内皮細静脈に発現するMadCAM-1とリンパ球に発現する $\alpha 4\beta 7$ インテグリンとの相互作用を介して, 実効組織である腸管粘膜固有層に帰巢する<sup>10</sup>. このような誘導組織と実効組織を結ぶ一連の経路は粘膜免疫循環帰巢経路(CMIS; common mucosal immune system)と呼ばれ, 粘膜免疫誘導組織で抗原感作を受けて全身循環系を移行するリンパ球は, 抗原特異的なIgGの産生を主体とする全身免疫系の賦活化にも大きく関係する<sup>11</sup>. CMISを介して実効組織に到達したIgA<sup>+</sup>B細胞は, Th2細胞の産生するIL-5, IL-6などのサイトカインによりIgA産生形質細胞に分化し, 二

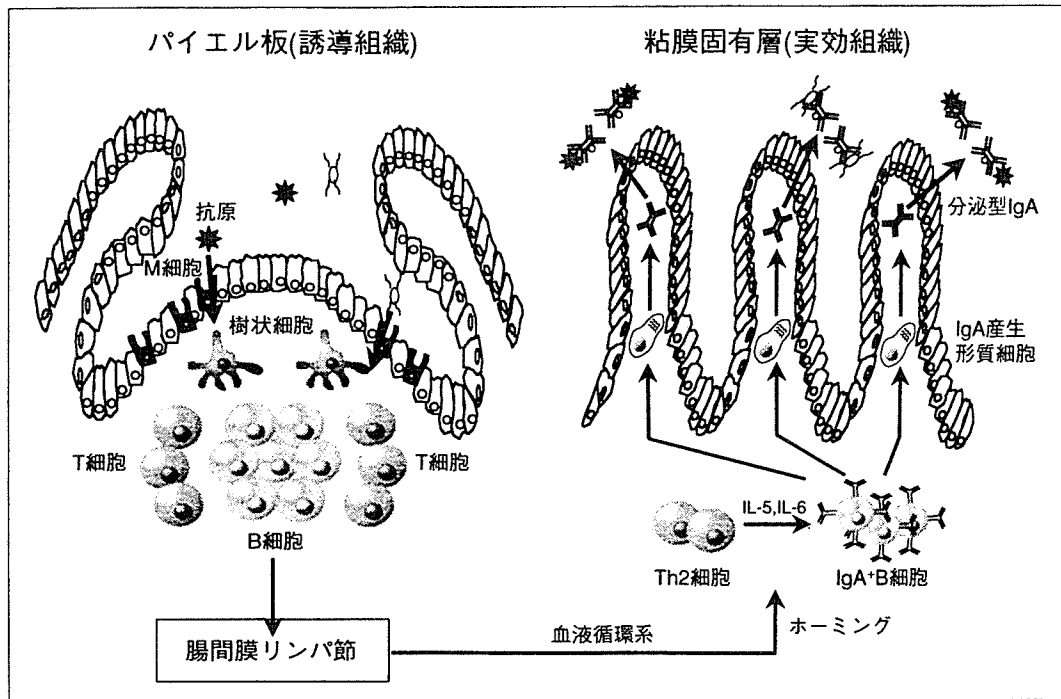


図3 マウス小腸における分泌型IgA産生システム(循環帰巢経路: CMIS)

粘膜免疫誘導組織を覆うFAEのM細胞により取り込まれた抗原は樹状細胞などの抗原提示細胞に受け渡されると考えられる。パイエル板に代表される誘導組織で抗原感作を受けたリンパ球は、腸間膜リンパ節を介して血液循環系へと入り、小腸粘膜固有層などの粘膜免疫実効組織へとホーミングする。小腸粘膜固有層ではTh2細胞がIL-5, IL-6などのサイトカインを産生し、抗原特異的なIgA<sup>+</sup>B細胞の形質細胞への分化を促す。形質細胞から産生された二量体・多量体IgAは、上皮細胞の基底膜に発現するpIgRに結合した後、トランスサイトーシスを経て分泌型IgAとして管腔へと分泌される。このようにして産生・分泌された分泌型IgAは抗原の粘膜面への接着を阻止する役割を果たす。

量体・多量体IgAを産生する。そして、これらのIgAは上皮細胞の産生するpIgR(polymeric Ig receptor)との結合を介して、最終的に腸管などの粘膜面に分泌型IgA(secretory IgA; S-IgA)として分泌され、抗原の粘膜上皮への接着・侵入が阻止される(図3)<sup>9)11)12)</sup>。一方、パイエル板FAEはpIgRを発現せず、その結果S-IgAの分泌もみられない<sup>2)</sup>。しかし、マウスパイエル板FAEのM細胞管腔膜にはIgA定常部位のCa1とCa2の両方のドメインを認識する新規IgAレセプターが存在し、同様な機能をもつIgAレセプターがヒトパイエル板FAEのM細胞にも存在する可能性が見出されている<sup>13)</sup>。また、M細胞はこの新規IgAレセプターを介してS-IgAによる免疫複体を効率的に取り込んだ後、FAE直下の領域(SED領域; subepithelial dome region)に存在する樹状細胞が免疫複体を捕捉し、最終的に抗原特異的な免疫応答が誘導されうることを示唆する結果も報告されて

いる<sup>14)15)</sup>。

一方、絨毛M細胞における抗原取り込みに関する責任分子は今のところ同定されていないものの、絨毛M細胞の基部には、FAEのM細胞と同様に免疫担当細胞が集積したポケット構造がみられるため、絨毛M細胞により取り込まれた抗原は、ポケットに存在する免疫担当細胞に受け渡されると考えられる。一般的に、M細胞は管腔側から抗原を取り込みGALTにおける抗原特異的な免疫応答の惹起に重要であると考えられるが、GALTの発達がまったくみられないTNF/LTα欠損マウスを用いた実験結果から、絨毛M細胞により取り込まれた抗原は、GALTに依存しない免疫誘導機構を介して処理されることが示唆される(図4)<sup>1)</sup>。絨毛M細胞を介して取り込まれた抗原に対する免疫応答のメカニズムの解明については今後の課題であるが、腸管上皮細胞によるケモカインの発現の分布が鍵を握って

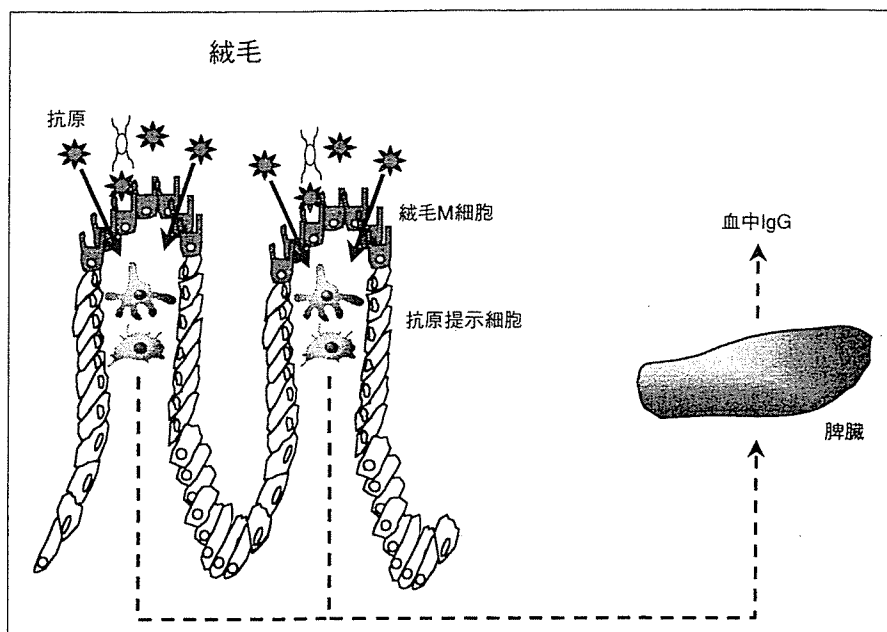


図4 絨毛M細胞による抗原取り込みとGALT非依存的な免疫誘導機構  
FAEのM細胞と同様、絨毛M細胞により取り込まれた抗原は、ポケットに集積した免疫担当細胞に受け渡されると考えられる。絨毛M細胞を介して生体内に取り込まれた抗原の送達経路は不明であるが、パイエル板などの粘膜免疫誘導組織やリンパ節を欠いたTNF/LT $\alpha$ 欠損マウスでは、絨毛M細胞により取り込まれた抗原に特異的なIgGの産生が血清中にみられるため、抗原を取り込んだ抗原提示細胞は、おそらく脾臓に移行すると思われる。

いるのかもしれない。たとえば、マウスパイエル板のFAEではケモカインCCL20やCCL9が特異的に発現し、それぞれのケモカインに対して遊走活性を示すケモカインレセプターCCR6, CCR1を発現するCD11b<sup>+</sup>樹状細胞がSED領域に集積する<sup>16)17)</sup>。一方、マウス小腸絨毛上皮細胞はCX<sub>3</sub>CL1を発現し、粘膜固有層にはそのレセプターであるCX<sub>3</sub>CR1を発現し、管腔内の抗原を直接取り込む別のサブセットの樹状細胞の存在がみられる<sup>18)19)</sup>。このようなケモカインの特徴的な発現分布を起因とした、腸管での免疫担当細胞の分布の違いは、FAEのM細胞と絨毛M細胞の免疫生物学的機能の違いを反映しているのかもしれない。

### M細胞の分子生物学的解析

M細胞に関する形態学的、組織学的な解析はこれまで多くなされてきたが、M細胞の分子生物学的解明に関しては不明な点が多い。しかし近年、分子生物学的手法の発展に伴い、PGRP-S, *Sgne-1*がマウスパイエル板FAEのM細胞に特異的に発現する遺伝子として同定された<sup>20)21)</sup>。PGRP-Sは好中球の顆粒に存在する分泌型蛋白質

で、Toll-likeレセプター(TLR)と同様に細菌表面のペプチドグリカンを認識することから、腸内常在細菌や病原細菌との関与が考えられる<sup>22)23)</sup>。また*Sgne-1*は神経内分泌細胞の分泌顆粒中に存在し、プロホルモン変換酵素PC2 (proprotein convertase 2)のシャペロンとして機能し、PC2の細胞内輸送に関与することから、M細胞における抗原の取り込みおよび細胞内輸送への関与が示唆されている<sup>24)</sup>。さらに、M細胞に特異的ではないにしても、M細胞を含むFAEに特異的に発現する遺伝子として*TNFRsf12a*, *ubiquitin-D (Ub-D)*が最近同定された<sup>21)</sup>。*TNFRsf12a*はTWEAK (tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis)のレセプターであり、NF- $\kappa$ Bの活性化を介してICAM-1やケモカインの発現を誘導することから、なんらかのかたちで粘膜免疫応答に関与していると考えられている<sup>25)</sup>。*Ub-D*はヒトではMHCクラスI領域にコードされ、ヒトとマウスの脾臓や胸腺に発現がみられ、IFN- $\gamma$ やTNF- $\alpha$ によりその蛋白発現が誘導されることから、上皮細胞の抗原提示への関与が示唆される<sup>26)</sup>。実際にこれら同定された分子群のM細胞における役

割はまだわかってはいないものの、M細胞の免疫生物学的特徴を説明する上で重要な手がかりになりうるであろう。現在、われわれも絨毛M細胞ならびにパイエル板FAEのM細胞に特異的な分子の探索に着手しており、新たなM細胞機能分子の同定、およびその分子の機能解析に取り組んでいる。

### おわりに

最近、ブタのM細胞にはTLR2, TLR9が、マウスのM細胞にはTLR4が発現しており、M細胞がこれらのレセプターを介して細菌を認識する可能性が示唆された<sup>27)~29)</sup>。さらに、絨毛M細胞の発見後、粘膜実効組織である上気道の上皮層においても、形態学的にM細胞と相同な細胞が存在することが報告された<sup>30)</sup>。このことは腸管のみならず、呼吸器系粘膜実効組織の上皮層においてもM細胞が普遍的に存在し、抗原が取り込まれる可能性を示している。

これまで述べてきたように、近年、M細胞の分子生物学的、免疫生物学的解明は着実に進歩していると言えよう。M細胞の分子生物学的および免疫生物学的機能を解明することは、感染防御の第一線である粘膜面での抗原特異的なS-IgA産生、および血清中の抗原特異的なIgG産生を効果的に誘導する粘膜ワクチンを開発する上でも重要であり、今後の研究の成果が大いに期待される。

### 文 献

- 1) Jang MH, Kweon MN, Kiyono H, et al. Intestinal villous M cells : an antigen entry site in the mucosal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 ; 101 : 6110.
- 2) Neutra MR, Mantis NJ, Kraehenbuhl JP. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nat Immunol* 2001 ; 2 : 1004.
- 3) Kerneis S, Bogdanova A, Pringault E, et al. Cytosolic distribution of villin in M cells from mouse Peyer's patches correlates with the absence of a brush border. *Gastroenterology* 1996 ; 110 : 515.
- 4) Clark MA, Jepson MA, Hirst BH, et al. Differential expression of lectin-binding sites defines mouse intestinal M-cells. *J Histochem Cytochem* 1993 ; 41 : 1679.
- 5) Giannasca PJ, Giannasca KT, Neutra MR, et al. Human intestinal M cells display the sialyl Lewis A antigen. *Infect Immun* 1999 ; 67 : 946.
- 6) Clark MA, Hirst BH, Jepson MA. M-cell surface  $\beta$ 1 integrin expression and invasin-mediated targeting of *Yersinia pseudotuberculosis* to mouse Peyer's patch M cells. *Infect Immun* 1998 ; 66 : 1237.
- 7) Borghesi C, Taussig MJ, Nicoletti C. Rapid appearance of M cells after microbial challenge is restricted at the periphery of the follicle-associated epithelium of Peyer's patch. *Lab Invest* 1999 ; 79 : 1393.
- 8) Bry L, Falk PG, Gordon JI, et al. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. *Science* 1996 ; 273 : 1380.
- 9) Yuki Y, Kiyono H. New generation of mucosal adjuvants for the induction of protective immunity. *Rev Med Virol* 2003 ; 13 : 293.
- 10) Berlin C, Bargatze RF, Butcher EC, et al.  $\alpha$ 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. *Cell* 1995 ; 80 : 413.
- 11) Czerkinsky C, Anjuere F, McGhee JR, et al. Mucosal immunity and tolerance : relevance to vaccine development. *Immunol Rev* 1999 ; 170 : 197.
- 12) Kiyono H, Fukuyama S. NALT- versus Peyer's patch-mediated mucosal immunity. *Nat Rev Immunol* 2004 ; 4 : 699.
- 13) Mantis NJ, Cheung MC, Neutra MR, et al. Selective adherence of IgA to murine Peyer's patch M cells : Evidence for a novel IgA receptor. *J Immunol* 2002 ; 169 : 1844.
- 14) Rey J, Garin N, Corthésy B, et al. Targeting of secretory IgA to Peyer's patch dendritic and T cells after transport by intestinal M cells. *J Immunol* 2004 ; 172 : 3026.
- 15) Favre L, Spertini F, Corthésy B. Secretory IgA possesses intrinsic modulatory properties stimulating mucosal and systemic immune responses. *J Immunol* 2005 ; 175 : 2793.
- 16) Iwasaki A, Kelsall BL. Localization of distinct Peyer's patch dendritic cell subsets and their re-

- cruitment by chemokines macrophage inflammatory protein (MIP)-3 $\alpha$ , MIP-3 $\beta$ , and secondary lymphoid organ chemokine. *J Exp Med* 2000 ; 191 : 1381.
- 17) Zhao X, Sato A, Iwasaki A, et al. CCL9 is secreted by the follicle-associated epithelium and recruits dome region Peyer's patch CD11b<sup>+</sup> dendritic cells. *J Immunol* 2003 ; 171 : 2797.
- 18) Rescigno M, Urbano M, Ricciardi-Castagnoli P, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol* 2001 ; 2 : 361.
- 19) Niess JH, Brand S, Reinecker HC, et al. CX<sub>3</sub>CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science* 2005 ; 307 : 254.
- 20) Lo D, Tynan W, O'Mahony DJ, et al. Peptidoglycan recognition protein expression in mouse Peyer's patch follicle associated epithelium suggests functional specialization. *Cell Immunol* 2003 ; 224 : 8.
- 21) Hase K, Ohshina S, Ohno H, et al. Distinct gene expression profiles characterize cellular phenotypes of follicle-associated epithelium and M cells. *DNA Res* 2005 ; 12 : 127.
- 22) Dziarski R, Platt KA, Gupta D, et al. Defect in neutrophil killing and increased susceptibility to infection with nonpathogenic gram-positive bacteria in peptidoglycan recognition protein-S (PGRP-S)-deficient mice. *Blood* 2003 ; 102 : 689.
- 23) Cho JH, Fraser IP, Ezekowitz AB, et al. Human peptidoglycan recognition protein S is an effector of neutrophil-mediated innate immunity. *Blood* 2005 ; 106 : 2551.
- 24) Mbikay M, Seidah NG, Chrétien M. Neuroendocrine secretory protein 7B2 : structure, expression and functions. *Biochem J* 2001 ; 357 : 329.
- 25) Wiley SR, Winkles JA. TWEAK, a member of the TNF superfamily, is a multifunctional cytokine that binds the TweakR/Fn14 receptor. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003 ; 14 : 241.
- 26) Liu YC, Pan J, Weissman SM, et al. A MHC-encoded ubiquitin-like protein (FAT10) binds noncovalently to the spindle assembly checkpoint protein MAD2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 ; 96 : 4313.
- 27) Tohno M, Shimosato T, Saito T, et al. Toll-like receptor 2 is expressed on the intestinal M cells in swine. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 ; 330 : 547.
- 28) Shimosato T, Tohno M, Saito T, et al. Toll-like receptor 9 is expressed on follicle-associated epithelia containing M cells in swine Peyer's patches. *Immunol Lett* 2005 ; 98 : 83.
- 29) Tyrer P, Foxwell AR, Kyd JM, et al. Microbial pattern recognition receptors mediate M-cell uptake of a Gram-negative bacterium. *Infect Immun* 2006 ; 74 : 625.
- 30) Kumar P, Timoney JF. Histology, Immunohistochemistry and ultrastructure of the equine tubal tonsil. *Anat Histol Embryol* 2005 ; 34 : 141.

\* \* \*



## 2. 粘膜系好酸球様樹状細胞による免疫寛容制御

東京都臨床医学総合研究所免疫・感染症研究分野花粉症プロジェクト 廣井 隆親

同 花粉症プロジェクト 塚越百合子  
東京大学医科学研究所感染・免疫大部門炎症免疫学分野

同 教授 清野 宏

key words regulatory cell, dendritic cell, eosinophil, mucosal immune system, oral tolerance

### 動 向

生体は、口腔、鼻腔、呼吸器、消化管、泌尿生殖器といった内腔を形成している表面を覆っている粘膜面は皮膚表面積の約200倍以上を占める。細菌、ウイルスなどの病原微生物や、食物抗原をはじめとする外来抗原に絶えず曝露されている。生体における外部環境と内部環境の接点である粘膜面には、全身系免疫とは異なった免疫誘導・制御機構を有する粘膜免疫システムが存在する。この広大な粘膜面を介して進入してくる病原性微生物に対して、生体は細胞性ならびに体液性免疫を誘導することにより防御を行う。その一方で、粘膜系で最大の表面積を有する消化管では、栄養源として多量に取り込まれる食物抗原や腸内に存在する無数の腸内共生細菌に対しては、積極的な免疫応答を誘導せず無視・不応答の状態になる免疫寛容を誘導することが示されており、このシステムの破綻によって食物アレルギーや炎症性腸疾患などのさまざまな疾患が引き起こされると考えられている。このように、粘膜免疫は外来抗原に対して「正」である感染防御反応と「負」の免疫寛容を、同一組織内に誘導することによって生体の免疫学的恒常性を維持している。そこで近年、粘膜免疫における経口免疫寛容の概念を応用した

アレルギーや自己免疫疾患の新たな予防法ならびに治療法が注目され検討されてきたが、その具現化に向けてはまだ未解明な部分が多く、その誘導・制御機構についてのさらなる詳細な解析が必要である。そこで本稿では経口免疫寛容の誘導機構に関しての解説を行い、経口免疫寛容を用いた各種疾患に対する予防・治療における今後の展望および課題、さらに近年我々が小腸粘膜固有層に見出した経口免疫寛容の誘導に関与していると考えられる新たな制御性抗原提示細胞である好酸球様樹状細胞について紹介する。

### A. 経口免疫寛容とは？

経口免疫寛容の現象に関してその歴史は古く、1909年に経口投与された抗原に対する免疫応答が注射投与された抗原とは異なった免疫反応であることが報告され<sup>1)</sup>、その2年後の1911年にニワトリ卵白アルブミン (OVA) を事前に経口投与したモルモットにおいてアナフィラキシー反応の誘発を抑制したことが初めて実験的に示された<sup>2)</sup>。その後、タンパク質抗原を事前に経口投与した実験動物では、血清中の抗原特異的IgM、IgGおよびIgEの抗体価の減少ならびに細胞性免

疫や遅延型アレルギー反応の抑制が起こることが多くの研究により報告されてきた<sup>3,4)</sup>。さらにこれらの現象は、抗原特異的CD4<sup>+</sup>T細胞の活性化の抑制によって引き起こされることが明らかとなり、経口免疫寛容の実体は抗原特異的CD4<sup>+</sup>T細胞の不応答に付随する免疫応答であると考えられるようになった<sup>5)</sup>。

## B. 経口免疫寛容を用いた各種疾患への取り組み

経口免疫寛容の誘導機構が次第に明らかになるにつれ、これを積極的に利用して自己免疫疾患やアレルギーなどの疾患の治療へ応用するという試みが実験動物の結果をもとに一部臨床試験が進められてきた。自己免疫疾患においては、原因となっている自己抗原に対する免疫応答を経口免疫寛容によって抑制することにより、症状を緩和することが期待される<sup>6)</sup>。また、原因となる自己抗原が同定されていない自己免疫疾患については、疾患が発症している患部に局在する抗原を投与して抗原特異的な免疫応答を誘導し、抑制性サイトカインであるTGF- $\beta$ やIL-10を産生することによって近隣の自己免疫疾患に直接関与する活性化T細胞

を抑制するbystander suppressionを利用することにより、患部における過剰な免疫応答を抑制することができることが報告されている<sup>7)</sup>。これまでに経口免疫寛容による治療効果が期待される自己免疫疾患の動物モデルを用いた研究のまとめを表1に示した。

花粉症や食物アレルギーといったアレルギー疾患は、我が国においても近年急激な増加が認められており深刻な社会的な問題となっている。罹患者の生活の質に対する影響が多大であるのはもちろんのこと、アレルギー疾患に対して使われる医療費が膨大な金額にのぼる経済的視点からも、その根本的な予防・治療法の開発が急務といえる。以前の報告において、アレルゲンの経口投与がIgE応答と腸管におけるマスト細胞の応答の両方を効果的に抑制するということが示されており、経口免疫寛容の概念をアレルギーの新規予防・治療法の開発に応用する可能性が示唆されている<sup>19)</sup>。そこで、農業生物資源研究所を中心としてスギ花粉症に対する経口免疫寛容を惹起できるコメの開発が進められている<sup>20)</sup>。我々は、スギ花粉抗原であるCryj-1とCryj-2のマウスに対する数種のペプチドを胚乳部分に発現させたコメ（スギ花粉症緩和米）をマウスに経口投与するこ

表1 動物モデルを用いた経口免疫寛容による自己免疫疾患・アレルギーの予防・治療効果の検討

動物疾患モデル名	対応するヒト疾患	投与される抗原	文献
実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE)	多発性硬化症	ミエリン塩基性タンパク質 (MBP)	8)
実験的自己免疫性ブドウ膜炎	ブドウ膜炎	S抗原	9)
実験的自己免疫性糖尿病 (NODマウス)	インスリン依存性糖尿病	インスリン グルタミン酸脱炭酸酵素	10, 11)
コラーゲン誘導性関節炎, アジュバント関節炎	慢性関節リウマチ	II型コラーゲン	12)
実験的自己免疫性重症筋無力症	重症筋無力症	アセチルコリンレセプター	13)
実験的自己免疫性甲状腺炎	慢性甲状腺炎	チオグロブリン	14)
臓器移植		アロ抗原, V型コラーゲン	15, 16)
アトピー性疾患	アトピー性疾患	Derp1 (ダニ抗原) スギ花粉抗原	17, 18)

とで花粉症の主要な症状であるくしゃみが緩和されることを示した(図1)<sup>20)</sup>。さらに、両ペプチドを発現するコメを経口投与されたマウスにおいて、血清中のアレルゲン特異的IgG, IgEならびにCD4<sup>+</sup>T細胞の増殖活性が有意に低下していることや、アレルゲン特異的CD4<sup>+</sup>T細胞からのアレルギー誘導サイトカイン(IL-4, IL-5, IL-13)そしてヒスタミンの産生が有意に減少していることなど、このスギ花粉T細胞エピトープ発現米を食べることによって経口免疫寛容を用いた花粉アレルギーに対する予防作用があることが確認された<sup>20)</sup>。実際にヒトへ応用するためには、組換え植物としての安全性や、予防効果のみならず治療効果に関する解析が必要であり、その実用化に向けて関連の行政機関・各学会との連携はもとより国民の認知と理解を得ながら、アレルギー疾患の新規予防・治療法として今後のさらなる開発研究を進めていくことが必要である。

### C. T細胞を中心とした経口免疫寛容誘導・抑制機序

経口免疫寛容の誘導メカニズムについてはいまままで詳細な分子細胞メカニズムは明らかになっていない部分が多いものの、大量抗原の単回投与による①抗原特異的T細胞の除去(クローナルデリーション)、②抗原特異的T細胞の不応答化(アナジー)、少量抗原の複数回投与による③制御性T細胞による抑制(アクティブ サプレッション)の3つの機構に大別されると考えられている(図2)<sup>21)</sup>。かつてはこれらの機構は独立に機能していると考えられていたが、現在ではこれらの機構は相互に干渉しあうことで経口免疫寛容の成立に寄与しているものと考えられている(図2)。

クローナルデリーションは胸腺において自己反応性のT細胞を除去する中枢性免疫寛容における主要なメカニズムであり、その誘導には一般的にT細胞レセプター(TCR)と抗原-MHC複合体とが強い親和性をもって結合することが必要であ

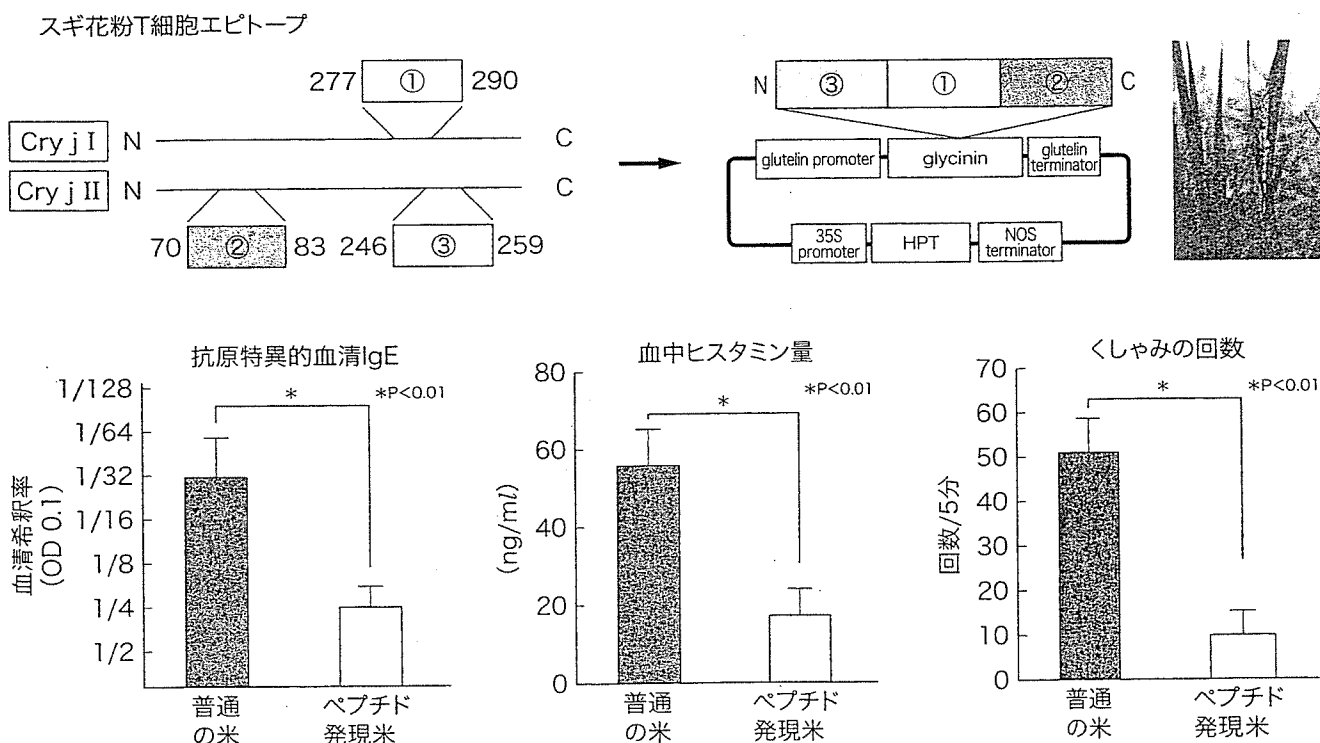


図1 マウスを用いた花粉症緩和米のスギ花粉症予防効果

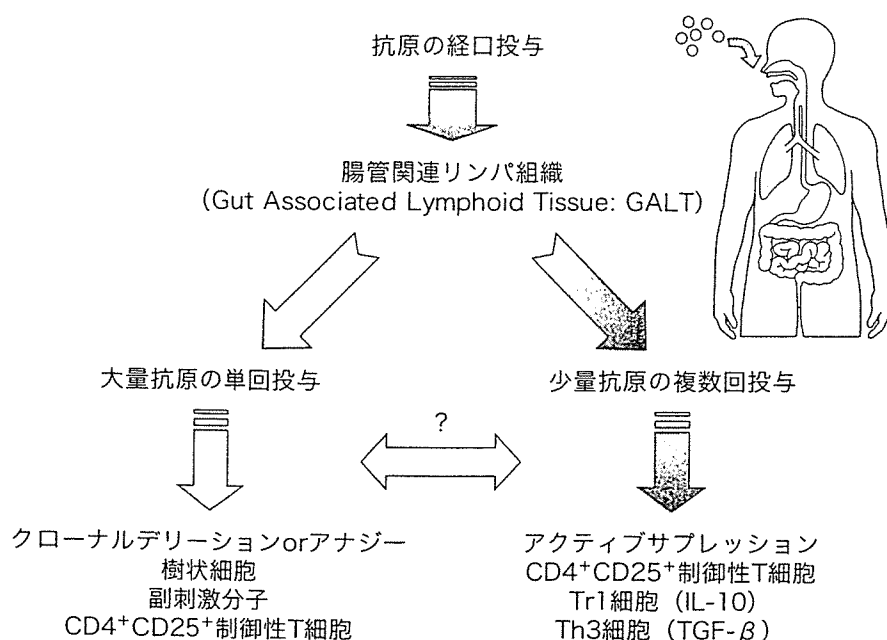


図2 経口免疫寛容の誘導メカニズム

さらに、末梢組織においても抗原-MHC複合体からの活性化シグナルが強い場合にはそのT細胞群はクローナルデリーションによって除かれる。経口免疫寛容においては、多発性硬化症における原因抗原であるミエリン塩基性タンパク myelin basic protein (MBP) に特異的なTCRトランスジェニックマウスを用い、MBPを経口投与して経口免疫寛容を誘導したところ、このマウスにおいて抗原特異的T細胞のクローナルデリーションがPeyer板ならびに末梢リンパ節で確認されたことが報告されている<sup>22)</sup>。また、ニワトリ卵白アルブミン (OVA) 特異的TCRトランスジェニックマウスにおいても同様の報告がされている<sup>23)</sup>。これらが非生理的な大量の特異抗原を単一のTCRのみを有するトランスジェニックマウスに投与した実験であることや、細胞死に必須のFasを自然欠損したlprマウスにおいて経口免疫寛容が正常に起こることなどから<sup>24)</sup>、クローナルデリーションが経口免疫寛容の誘導に唯一のメカニズムとはいえないであろう。

アナジーは抗原特異的T細胞がその抗原に対して不応答である状態と定義されている<sup>25)</sup>。T細胞

の活性化には、抗原特異的なTCRを介するシグナルに加え、T細胞上のCD28と抗原提示細胞上のCD80、CD86といった副刺激分子との相互作用による補助シグナルが必要であるが、この補助シグナルが不十分な状態でTCRを介するシグナルが細胞に伝えられると、T細胞は不応答の状態に陥る<sup>25)</sup>。T細胞側におけるCD80、CD86のもう1つのリガンドであるCTLA-4はCD28とは逆にT細胞の活性化を負に制御する副刺激分子であり、この分子もT細胞のアナジーに関与していると考えられている<sup>26)</sup>。これまで、アナジーの状態に陥った細胞は全ての機能を失うと考えられていたが、現在ではIL-4やIL-10の産生能を有していることや<sup>27)</sup>、アナジーに陥ったCD4<sup>+</sup>T細胞が*in vivo*と*in vitro*両方で抑制性の機能を有する細胞として機能することが知られており<sup>28,29)</sup>、大量の抗原を投与した場合におけるT細胞のアナジーと制御性T細胞には相互関係があることが示唆されている。

これまで報告されている制御性T細胞の種類には、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T細胞<sup>30)</sup>、Tr1細胞<sup>31)</sup>、Th3細胞<sup>32)</sup>などがあげられ、これらの細胞は抑制性

サイトカインとして知られている IL-10 や TGF- $\beta$  産生能によって免疫抑制機能を発揮する<sup>30-32)</sup>。さらに制御性 T 細胞は抗原特異的な免疫応答を抑制するのみならず, bystander suppression によってその抗原に特異的な T 細胞以外の組織中の近隣免疫担当細胞に対しても抑制機能を発揮することができる<sup>7)</sup>。また, TGF- $\beta$  が IL-10 を産生する制御性 T 細胞の分化および CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>制御性 T 細胞の増殖を誘導することや, TGF- $\beta$  を産生する細胞が TGF- $\beta$  自身によって分化促進され, さらに IL-10 によってこれが増強されることなどの報告があることから<sup>33-36)</sup>, これらの異なる種類の制御性 T 細胞は相互に干渉することで経口免疫寛容の成立に寄与しているものと予想される。また, 制御性 T 細胞は大量の抗原を投与した場合, 少量の抗原を投与した場合の両方において経口免疫寛容への関与が確認されていることから<sup>21)</sup>, これまで提唱されてきた大量抗原投与ではクローナルデリーションとアナジーにより, 少量抗原投与では制御性 T 細胞により経口免疫寛容が誘導されるという既存の免疫学的概念を再考察する必要がある, これまで知られていない新たな経口免疫寛容誘導機序が存在するのかもしれない。また, 多種多様な抗原に常時曝露されている粘膜面では重複性の制御機構が存在していても不思議ではない。

#### D. 免疫寛容と樹状細胞

経口投与された抗原に対する「負」の応答である経口免疫寛容も抗原特異的な免疫応答であり, その誘導には抗原ペプチドを MHC 分子に結合させて T 細胞に提示する抗原提示細胞の役割が非常に重要となってくる。抗原提示細胞には, MHC-class II 分子を高発現するマクロファージ, B 細胞や樹状細胞 dendritic cell (DC) がある。中でも樹状細胞は抗原提示能力が高く, 経口投与された抗原に対する免疫応答性を制御する主要な役

割を果たすことが想像される。

ヒトおよびマウスにおいて, 樹状細胞はその表面抗原の違いにより CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>DC であるミエロイド系樹状細胞 myeloid DC (mDC) と, CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>DC であるリンパ系樹状細胞 lymphoid DC (lDC) に大別される<sup>37)</sup>。さらに近年報告された新たな樹状細胞サブセットである形質細胞様樹状細胞 plasmacytoid DC (pDC) は, マウスにおいては顆粒球マーカーである Gr-1 と B 細胞マーカーである B220 を発現している DC である<sup>38)</sup>。一方ヒトにおける pDC は表面抗原が CD4<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>CD11c<sup>-</sup>であり, 低発現の MHC クラス II 分子が認められている<sup>38,39)</sup>。また, マウスの pDC のサブポピュレーションには CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>細胞が存在し, ヒトにおける pDC と類似している点も認められている<sup>38,39)</sup>。このように, 細胞の分化マーカーを中心にした解析では DC として分類される細胞群は少なくとも 3 つの細胞群に分類されている中, 表面抗原の違いによる DC の抑制性機能解析においては CD40L で活性化された pDC は, 抗原に感作された CD4<sup>+</sup>T 細胞と CD8<sup>+</sup>T 細胞を, 抑制性の IL-10 産生 CD4<sup>+</sup>T 細胞と CD8<sup>+</sup>T 細胞にそれぞれ分化誘導することが知られている<sup>40,41)</sup>。一方, pDC 以外の DC においても T 細胞の不応答を誘導する可能性が示されており, T 細胞が産生する IFN- $\gamma$  や CTLA-4 分子からの刺激による DC の活性化に伴い, インドールアミン 2,3-デオキシナーゼ (IDO) 活性が増加し, 活性化 T 細胞をアポトーシスに誘導することが報告されている<sup>42,43)</sup>。さらに, 活性化ビタミン D で処理した DC は CD80, CD86, CD40 などの副刺激分子の発現が抑制されることにより, 制御性 CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞を誘導することで免疫寛容の誘導が起こることも報告されている<sup>44)</sup>。しかしながら, DC が経口免疫寛容を誘導するメカニズムについては粘膜面に存在する DC の種類やその活性化条件などを含めて十分に解明されていない

いのが現状である。

## E. 粘膜面に存在する新たなCD11c<sup>+</sup>樹状細胞

我々は粘膜面に存在するDCと経口免疫寛容への関与について検討するために、はじめにマウス小腸に存在する各種CD11c<sup>+</sup>DCの解析を行った。マウス小腸粘膜組織は免疫学的構造に基づき大きく分けてリンパ節様組織群であるパイエル板 Peyer's patch (PP), 孤立リンパ小節 isolated lymphoid follicle (ILF) と結合組織からなる粘膜固有層に分類される。これらおのおのの組織に存在するCD11c<sup>+</sup>DCの表層抗原をFACS解析した結果、全ての組織においてリンパ球画分 (FSC<sup>low</sup>とSSC<sup>low</sup>) にはCD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>のミエロイド系DCの他にGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>の形質細胞様樹状細胞の存在が認められた<sup>45)</sup>。また解析したPP, ILFならびに粘膜固有層の中で、粘膜固有層のみに顆粒球画分にGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>細胞が存在することが確認された<sup>45)</sup>。そこでこのGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>細胞を分離して酵素組織染色を行った結果、分様化した核を有し好酸球と類似したペルオキシダーゼおよび酸性ホスファターゼ活性が陽性で、かつエステラーゼ活性が陰性であることがわかった。また、透過型電子顕微鏡での観察の結果、細胞内に好酸球と類似した細胞内顆粒を有していることが判明した。さらに、顆粒球画分のGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>細胞は表層抗原としてF4/80とCD11bを発現し、pDCが発現しているB細胞のパンマーカーであるB220は発現していないことがわかった。また顆粒球画分のGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>細胞について、MHCクラスII分子と副刺激分子の発現レベルを検討したところ、粘膜リンパ節や腸管粘膜固有層に存在するミエロイド系ならびにリンパ系DCと比較してMHCクラスII分子の発現が優位に低いことや、CD80, CD86, CD40の発現様式が未

分化の樹状細胞と類似してきわめて低いことが認められた。またこの細胞をCpG/Flt3-Lで刺激した場合、MHCクラスII分子の高レベル発現および副刺激分子のわずかな発現上昇が認められ、組織学的に樹状形態を示すことが明らかとなった。以上の結果から、腸管粘膜固有層の顆粒球画分に存在するGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>B220<sup>-</sup>MHC-II<sup>+/+</sup>細胞は、好酸球と樹状細胞両者に類似した性質を有していることが示された。

## F. 粘膜固有層に存在する新たな制御性樹状細胞

腸管粘膜固有層に存在する新たな細胞群として見出されたGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>B220<sup>-</sup>好酸球様細胞が経口免疫寛容を含む粘膜免疫にどのように関与するか興味あるところである。そこでこの細胞の表層抗原の1つであるGr-1に対するモノクローナル抗体をマウスに投与することでGr-1<sup>+</sup>細胞を除去したマウスを作製し、OVAを用いた経口免疫寛容の誘導実験を行った。その結果、Gr-1<sup>+</sup>細胞を除去したマウスにおいてはOVA特異的な経口免疫寛容は誘導されなかった<sup>45)</sup>。これらの結果はGr-1<sup>+</sup>細胞が経口免疫寛容の誘導に必須であることを示唆している。マウスにおけるGr-1<sup>+</sup>細胞は、一部のCD8<sup>+</sup>T細胞, pDC, 好中球, 好酸球などがあげられており、次に我々は粘膜面に存在するGr-1<sup>+</sup>細胞群のどの分画が免疫寛容の誘導に関与しているかを検討した。OVAで経口感作したマウスのパイエル板から分離したGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>pDCと、粘膜固有層から分離したGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>B220<sup>-</sup>細胞(好酸球様細胞)およびGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>pDCをそれぞれ未感作マウスに移入し、OVA特異的な経口免疫寛容誘導実験を行った。その結果、それぞれの細胞群(pDCならびに好酸球様細胞)を移入したマウス全てにOVA特異的な経口免疫寛

容が誘導された。興味深いことに、抗CD25抗体で処理することによってCD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性T細胞群を除去したマウスに同様の移入実験を行ったところ、粘膜固有層から分離したGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>B220<sup>-</sup>好酸球様細胞を移入したマウスにおいてはOVA特異的経口免疫寛容が誘導されたが、パイエル板ならびに粘膜固有層から分離したGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>pDCを移入したマウスにおいてはOVA特異的経口免疫寛容が誘導されなかった<sup>45)</sup>。これらの結果は、我々が新たに腸管粘膜固有層から見出したGr-1<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>B220<sup>-</sup>好酸球様細胞がCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>制御性T細胞に依存せず、pDC-制御性CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T細胞ネットワークとは異なった機構によって経口免疫寛容を誘導する細胞であることを示唆している。

これらの一連の研究は、経口免疫寛容の誘導において、パイエル板などの粘膜リンパ節に存在するpDCと粘膜固有層に存在する好酸球様細胞という少なくとも2つの違った制御性誘導系が存在

することを示唆している(図3)。現在我々は、この細胞を好酸球様樹状細胞(eosinophilic dendritic cell: EDC)と命名し、この細胞の経口免疫寛容におけるメカニズムについての詳細な機能解析を進めている。

むすび

経口的に投与された食物抗原ならびに常在菌などの無害な抗原や、病原性細菌といった有害な抗原に曝露されている粘膜面においては、「正」と「負」の免疫応答が非常にバランスよく混在し生体の恒常性を維持している。このような多様性ある免疫応答誘導・制御の要になる細胞として、粘膜系樹状細胞が着目されている。自己免疫疾患やアレルギーに対し経口免疫寛容を誘導しこれらの疾患を予防および治療する目的のみならず、粘膜面を介して侵入する病原性微生物に対する免疫応答を誘導して効果的な初期防御を行う目的のためにも、粘膜面から取り込まれる抗原に対して各種

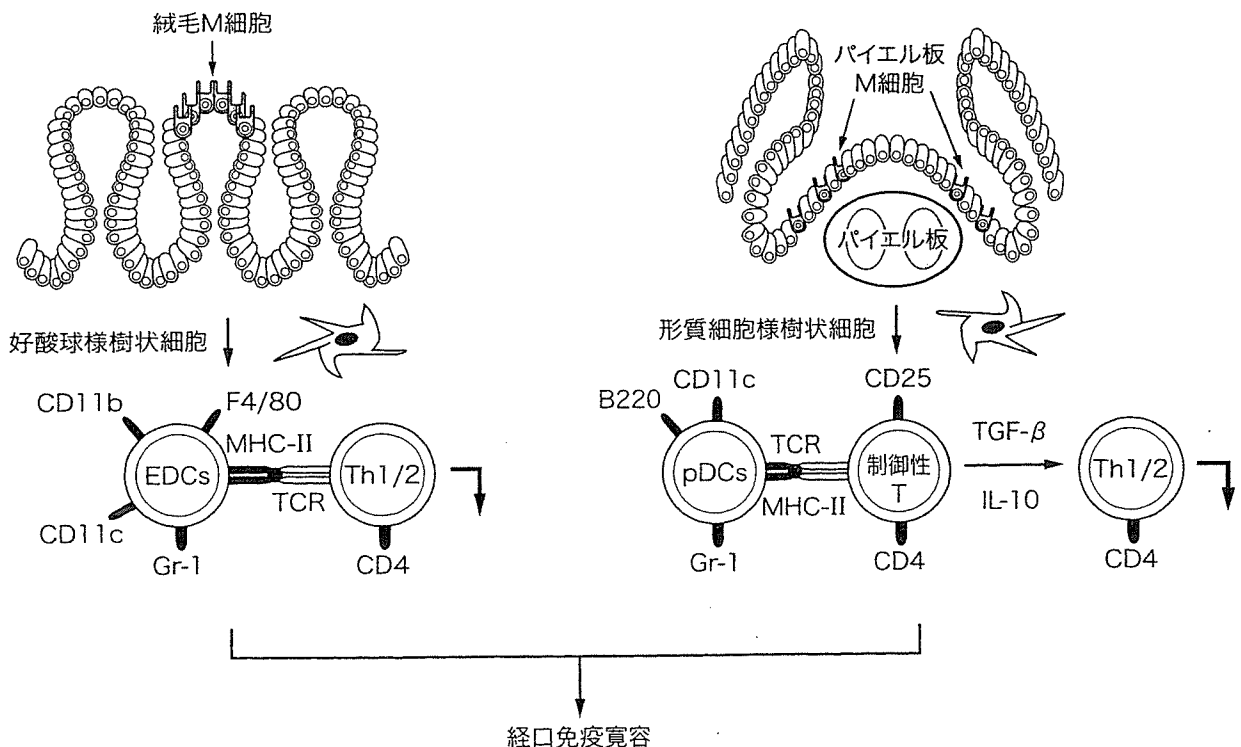


図3 腸管粘膜固有層の新たな樹状細胞(好酸球様樹状細胞: EDC)とパイエル板形質細胞様樹状細胞(pDCs)による二段構えの免疫恒常性誘導・維持機構存在の可能性

樹状細胞が「正と負」の免疫応答を誘導・制御するのかということ細胞レベル、分子レベルで明らかにしていくことが今後さらに重要となってくると思われる。

#### 〈謝辞〉

本研究の一部は、2003年度学術フロンティア助成金にて東京大学医科学研究所炎症免疫学分野で行われたものであり清野宏教授ならびにスタッフの協力を深謝いたします。

#### 文献

- 1) Besredka A. De L'Anaphylaxie: Sixieme memoire de l'anaphylaxie lactique. *Ann Instit Pasteur*. 1909; 23: 166-76.
- 2) Wells HG, Osborne TB. The biological reactions of the vegetable proteins. *J infect Dis*. 1911; 8: 66-124.
- 3) Challacombe SJ, Tomasi TB Jr. Systemic tolerance and secretory immunity after oral immunization. *J Exp Med*. 1980; 152: 1459-72.
- 4) Mowat AM, Ferguson A. Migration inhibition of lymph node lymphocytes as an assay for regional cell-mediated immunity in the intestinal lymphoid tissues of mice immunized orally with ovalbumin. *Immunology*. 1982; 47: 365-70.
- 5) Strobel S, Mowat AM. Oral tolerance and allergic responses to food proteins. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2006; 6: 207-13.
- 6) Weiner HL. Current issues in the treatment of human diseases by mucosal tolerance. *Ann N Y Acad Sci*. 2004; 1029: 211-24.
- 7) Millington OR, Mowat AM, Garside P. Induction of bystander suppression by feeding antigen occurs despite normal clonal expansion of the bystander T cell population. *J Immunol*. 2004; 173: 6059-64.
- 8) Song F, Guan Z, Gienapp E, et al. The thymus plays a role in oral tolerance in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 2006; 177: 1500-9.
- 9) Thureau SR, Chan CC, Suh E, et al. Induction of oral tolerance to S-antigen induced experimental autoimmune uveitis by a uveitogenic 20mer peptide. *J Autoimmun*. 1991; 4: 507-16.
- 10) Bergerot I, Arreaza GA, Cameron MJ, et al. Insulin B-chain reactive CD4<sup>+</sup> regulatory T-cells induced by oral insulin treatment protect from type 1 diabetes by blocking the cytokine secretion and pancreatic infiltration of diabetogenic effector T-cells. *Diabetes*. 1999; 48: 1720-9.
- 11) Ma SW, Zhao DL, Yin ZQ, et al. Transgenic plants expressing autoantigens fed to mice to induce oral immune tolerance. *Nat Med*. 1997; 3: 793-6.
- 12) Toussiroit EA. Oral tolerance in the treatment of rheumatoid arthritis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2002; 1: 45-52.
- 13) Maiti PK, Feferman T, Im SH, et al. Immunosuppression of rat myasthenia gravis by oral administration of a syngeneic acetylcholine receptor fragment. *J Neuroimmunol*. 2004; 152: 112-20.
- 14) Lee S, Scherberg N, DeGroot LJ. Induction of oral tolerance in human autoimmune thyroid disease. *Thyroid*. 1998; 8: 229-34.
- 15) Sayegh MH, Khoury SJ, Hancock WW, et al. Induction of immunity and oral tolerance with polymorphic class II major histocompatibility complex allopeptides in the rat. *Proc Natl Acad Sci*. 1992; 89: 7762-6.
- 16) Yasufuku K, Heidler KM, O'Donnell PW, et al. Oral tolerance induction by type V collagen downregulates lung allograft rejection. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001; 25: 26-34.
- 17) Sato MN, Oliveira CR, Futata EA, et al. Oral tolerance induction to Dermatophagoides pteronyssinus and Blomia tropicalis in sensitized mice: occurrence of natural autoantibodies to immunoglobulin E. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 1667-74.
- 18) Yoshitomi T, Hirahara K, Kawaguchi J, et al. Three T-cell determinants of Cry j 1 and Cry j 2, the major Japanese cedar pollen antigens, retain their immunogenicity and tolerogenicity in a linked peptide. *Immunology*. 2002; 107: 517-22.
- 19) van Halteren AG, van der Cammen MJ, Cooper D, et al. Regulation of antigen-specific IgE, IgG1, and mast cell responses to ingested allergen by mucosal tolerance induction. *J Immunol*. 1997; 159: 3009-15.



- 20) Takagi H, Hiroi T, Yang L, et al. A rice-based edible vaccine expressing multiple T cell epitopes induces oral tolerance for inhibition of Th2-mediated IgE responses. *Proc Natl Acad Sci.* 2005; 102: 17525-30.
- 21) Faria AM, Weiner HL. Oral tolerance. *Immunol Rev.* 2005; 206: 232-59.
- 22) Meyer AL, Benson J, Song F, et al. Rapid depletion of peripheral antigen-specific T cells in TCR-transgenic mice after oral administration of myelin basic protein. *J Immunol.* 2001; 166: 5773-81.
- 23) Marth T, Strober W, Kelsall BL. High dose oral tolerance in ovalbumin TCR-transgenic mice: systemic neutralization of IL-12 augments TGF-beta secretion and T cell apoptosis. *J Immunol.* 1996; 157: 2348-57.
- 24) Miller ML, Cowdery JS, Laskin CA, et al. Heterogeneity of oral tolerance defects in autoimmune mice. *Clin Immunol Immunopathol.* 1984; 31: 231-40.
- 25) Schwartz RH. T cell anergy. *Annu Rev Immunol.* 2003; 21: 305-34.
- 26) Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol.* 2002; 2: 116-26.
- 27) Buer J, Lanoue A, Franzke A, et al. Interleukin 10 secretion and impaired effector function of major histocompatibility complex class II-restricted T cells energized in vivo. *J Exp Med.* 1998; 187: 177-83.
- 28) Artik S, Haarhuis K, Wu X, et al. Tolerance to nickel: oral nickel administration induces a high frequency of anergic T cells with persistent suppressor activity. *J Immunol.* 2001; 167: 6794-803.
- 29) Zivny JH, Moldoveanu Z, Vu HL, et al. Mechanisms of immune tolerance to food antigens in humans. *Clin Immunol.* 2001; 101: 158-68.
- 30) Dubois B, Chapat L, Goubier A, et al. Innate CD4+CD25+ regulatory T cells are required for oral tolerance and inhibition of CD8+ T cells mediating skin inflammation. *Blood.* 2003; 102: 3295-301.
- 31) Grazia Roncarolo M, Gregori S, Gregori S, et al. Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans. *Immunol Rev.* 2006; 212: 28-50.
- 32) Fukaura H, Kent SC, Pietruszewicz MJ, et al. Induction of circulating myelin basic protein and proteolipid protein-specific transforming growth factor-beta1-secreting Th3 T cells by oral administration of myelin in multiple sclerosis patients. *J Clin Invest.* 1996; 98: 70-7.
- 33) Kitani A, Fuss I, Nakamura K, et al. Transforming growth factor (TGF)-beta1-producing regulatory T cells induce Smad-mediated interleukin 10 secretion that facilitates coordinated immunoregulatory activity and amelioration of TGF-beta1-mediated fibrosis. *J Exp Med.* 2003; 198: 1179-88.
- 34) Huber S, Schramm C, Lehr HA, et al. Cutting edge: TGF-beta signaling is required for the in vivo expansion and immunosuppressive capacity of regulatory CD4+CD25+ T cells. *J Immunol.* 2004; 173: 6526-31.
- 35) Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell.* 1994; 76: 241-51.
- 36) Weiner HL. Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol Today.* 1997; 18: 335-43.
- 37) Wu L, Dakic A. Development of dendritic cell system. *Cell Mol Immunol.* 2004; 1: 112-8.
- 38) Nakano H, Yanagita M, Gunn MD. CD11c(+)B220(+)Gr-1(+) cells in mouse lymph nodes and spleen display characteristics of plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med.* 2001; 194: 1171-8.
- 39) Sorg RV, Kogler G, Wernet P. Identification of cord blood dendritic cells as an immature CD11c- population. *Blood.* 1999; 93: 2302-7.
- 40) MacDonald KP, Rowe V, Clouston AD, et al. Cytokine expanded myeloid precursors function as regulatory antigen-presenting cells and promote tolerance through IL-10-producing regulatory T cells. *J Immunol.* 2005; 174: 1841-50.
- 41) Gilliet M, Liu YJ. Generation of human CD8 T regulatory cells by CD40 ligand-activated plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med.* 2004; 195: 695-704.
- 42) Munn DH, Sharma MD, Lee JR, et al. Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase.

Science. 2002; 297: 1867-70.

- 43) Grohmann U, Orabona C, Fallarino F, et al. CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo. *Nat Immunol.* 2002; 3: 1097-101.
- 44) Adorini L, Penna G, Giarratana N, et al. Tolerogenic dendritic cells induced by vitamin D receptor ligands enhance regulatory T cells

inhibiting allograft rejection and autoimmune diseases. *J Cell Biochem.* 2003; 88: 227-33.

- 45) Hiroi T, Yoda M, Myoung H, et al. A new biological role for intestinal granulocytes: regulation of T cell unresponsiveness to gut antigen by Gr-1<sup>+</sup>, CD11c<sup>+</sup> eosinophils (Revised processes).