

テュートリアル事例の解説

事例1（月曜日に提示）

今年の春医学部を卒業したK子さんは、研修医として多忙な日々を送っています。アパートに帰宅するのも夜遅くなることが多く、買い物も週末くらいしか行けません。日曜日の朝、遅い朝食を作ろうと冷蔵庫の中を探すと、いつ買ったのか思い出せないブロッコリーが残っていました。表面に黄色い小さな花が咲いていたので、ちょっとためらいましたが、ブロッコリーは大好物なので、そのまま茹でて食べてしまいました。

2時間ほどすると激しい吐き気を催し、トイレに駆け込んでお腹の中のものを全部吐き出してしまいました。その後も上腹部の痛みと吐き気が続いたので、ソファで横になって休みましたが、翌日の朝は何とか病院に出ることができました。今までブロッコリーを食べてお腹が痛くなったり下痢をしたりしたことは一度もないので、K子さんは何が原因か考えることもしませんでした。

それからひと月ほどして、週末にスーパーでブロッコリーを見つけたK子さんは、早速買い込んで新鮮なうちに茹でて、サラダにして食べました。食事から30分ほど過ぎた頃でしょうか、突然に上腹部がキリキリと痛み始め、しまいには胃がよじれるくらい痛くなって、起き上がる事もできなくなりました。

□ 皆さんに挙げて貰いたかったキーワード

- ・ 多忙な日々
- ・ 遅い帰宅
- ・ 冷蔵庫
- ・ いつ買ったのか思い出せない(長く保存された)
- ・ ブロッコリー
- ・ ブロッコリーの開花
- ・ 茹でる(加熱)
- ・ 食後2時間
- ・ 吐き気
- ・ 嘔吐
- ・ 上腹部痛
- ・ これまでブロッコリーを食べて腹痛や下痢を起こしたことはない
- ・ ひと月後
- ・ 新鮮なブロッコリー
- ・ 食事から30分
- ・ 胃がよじれるような痛み
- ・ 起き上がれない程の痛み

□ こんなことを考えてみましょう

- ・ 冷蔵庫で保存すれば食品は腐らない？
- ・ ブロッコリーの花って見たことある？
- ・ 食後2時間で嘔吐したというのは、何を意味するだろうか？

- ・「食中毒」の場合、食べてから発症するまでどのくらいかかるの？
- ・今まではブロッコリーを食べても何も起こらなかったのに、このときは何が違ったのだろうか？
- ・2回目は新鮮なブロッコリーなんだよね。
- ・食べてすぐにお腹が痛くなったのはどういうことだろうか？
- ・1回目に起こった嘔吐と、2回目の胃がよじれるような痛みとは、同じ「病気」なんだろうか？

解説

今年度のテュートリアルでは食物アレルギーを採り上げました。一番の狙いは、通常食物に対して免疫反応が起こらないのはなぜか、即ち「**経口トレランス(oral tolerance)**」のしくみを考えて貰うことです。そのための足掛かりとして、第1週は先ず経口トレランスの破綻による食物アレルギーの例を考えます。

さて、K子さんはどうやらブロッコリーに対する食物アレルギーを発症してしまったようです。

ブロッコリーアレルギーは稀な疾患ですが、症例の報告があります¹⁾。ブロッコリー(*Brassica oleracea*, *cultivar italica*)は南ヨーロッパの海岸地帯が原産のヤセイカンラン(*Brassica oleracea*, *wild cabbage*)に由来する園芸品種で、同じ種に属する他の園芸品種にケール(*B. oleracea* var. *acephala*: 「無頭」の)、カリフラワー(*B. oleracea* var. *botrytis*)、キャベツ(*B. oleracea* var. *capitata*)、メキャベツ(*B. oleracea* var. *gemmifera*)などがあります。何れもアブラナ科・アブラナ属(*Brassica*)に属し、アブラナ、ミズナ、カブ、ノザワナ、コマツナ、ハクサイ、チンゲンサイなども近縁種です。当然、キャベツやブロッコリーには交差反応性のある抗原の存在が知られており、主要なアレルゲンとして同定された抗原タンパク質として、**lipid transfer protein**がしばしば報告されています²⁾。



ただ、K子さんは**ブロッコリーが好物**と言うことですから、これまで何度もブロッコリーを食べ、その抗原に曝されてきた筈です。それにも関わらず「今までブロッコリーを食べてお腹が痛くなったり下痢をしたりしたことは一度もない」のですから、K子さんは花の咲いたブロッコリーを食べてしまうまでは、そのアレルゲンで感作されてはいなかったことになります。従って、冷蔵庫の中で忘れるくらいの期間保存され、花が咲いたブロッコリーを食べてしまったことがきっかけでブロッコリー中のアレルゲンに感作され、ひと月後に新鮮なブロッコリーを食べたとき、激しい腹痛を起こしたものと想定されます。

冷蔵庫で長く保存されたブロッコリーを食べて、2時間後に嘔吐したのは、おそらく「食中毒」のためでしょう。

食中毒は大きく毒素型と感染型に分けることが出来ますが(詳しくはこのUnitの後半の病原微生物学で学びます)、この事例のように原因となる食品の摂取から症状の発現までが短時間である場合、毒素型を考えます。原因となる細菌が食品中で増殖するとともに毒素を産生し、これが食品を汚染することが食中毒の原因となるので、増殖後の細菌を殺傷しても残留毒素により中毒症状が発生し、抗生物質は無効です。毒素が熱に弱い場合は加熱により除くことが可能ですが、耐熱性の毒素なら汚染食品を加熱後でも発症します。

この事例では、ブロッコリーを冷蔵庫で長期間保存している間に細菌が増殖して毒素を産生していた可能性があること、茹でた後も激しい嘔吐を引き起こしたことから、毒素は耐熱性があると考えられることより、一つの可能性としてセレウス菌による食中毒などが疑われます。

セレウス菌(*Bacillus cereus*)は、芽胞を形成するグラム陽性桿菌で、土壌、ほこり、汚水、野菜、香辛料など、自然界に広く分布します。好気的および嫌気的条件下で増殖出来、周囲に鞭毛を持ち、運動性があります。芽胞は耐熱性があり、100℃・30分の加熱に耐えるものがあり、炊飯後の米飯や加熱調理後のパスタなどからしばしば検出されています。セレウス菌の芽胞は1～59℃で発芽して、4～50℃で発育出来、至適増殖温度は10～45℃とされていますので、冷蔵庫の温度設定が少し高めであったり、頻繁に開閉を繰り返したりしている場合などは、セレウス菌が増殖し、毒素を産生する余地が十分にあります。セレウス菌による食中毒には嘔吐型と下痢型がありますが、嘔吐型は潜伏期が短く、毒素によると考えられます。嘔吐毒はイオノフォア様の構造を持つ環状ペプチドで³⁾、加熱や酵素処理に対して極めて安定であり、試験管内で培養細胞の胞体内に水泡形成を誘導することが出来ます。

今回の事例でK子さんの購入していたブロッコリーがセレウス菌に汚染されていたとすれば、それが冷蔵庫中で放置されていた間に増殖して耐熱性の嘔吐毒を産生し、加熱調理後も激しい嘔吐症状を引き起こしたことが説明できます。

1) Hermanides, H.K., *et al.* *Brassica oleracea* pollen, a new source of occupational allergens. **Allergy** 61: 498-502, 2006.

2) Palacin, A. *et al.* Cabbage lipid transfer protein Bra o 3 is a major allergen responsible for cross-reactivity between plant foods and pollens. **J. Allergy Clin. Immunol.** 117:1423-1429, 2006.

3) Agata, N. *et al.* A novel dodecadepsipeptide, cereulide, isolated from *Bacillus cereus* causes vacuole formation in HEp-2 cells. **FEMS Microbiol. Letters** 121:31-34, 1994.

事例2（水曜日に提示）

激しい上腹部の痛みは翌朝になると軽快したので、K子さんは研修先の病院に出勤しました。

それからまたひと月が過ぎた頃、久しぶりにお父さんと会ったK子さんは、レストランで食事を御馳走してもらいました。コースの中にブロッコリーを使った暖かいスープがありました。食事が終わる頃、突然お腹が痛くなり、トイレに駆け込んで嘔吐しました。お父さんにタクシーで送って貰い、自宅で休みましたが、今回は下痢もしました。

どうもブロッコリーを食べると必ずお腹が痛くなるようだと思い付いたK子さんは、皮膚科の先生に相談してプリックテストをして貰うことにしました。

□ 皆さんに挙げて貰ったかったキーワード

- ・ またひと月が過ぎた
- ・ レストラン
- ・ ブロッコリーのスープ
- ・ 腹痛と嘔吐
- ・ 下痢
- ・ ブロッコリーと腹痛の因果関係
- ・ 皮膚科
- ・ プリックテスト

□ こんなことを考えてみましょう

- ・これは食中毒なのだろうか？
- ・レストランで食中毒が出たらどうなるの？
- ・ブロッコリーとK子さんの症状とに、因果関係があるのだろうか？
- ・嘔吐と下痢があったのに、どうして皮膚科に行ったの？
- ・プリックテストって何？
- ・腹痛や下痢はどうして起こったのだろうか？

解説

事例1で、花の咲いたブロッコリーを食べた後に起こった最初の嘔吐と、そのひと月後に新鮮なブロッコリーを食べて起こった激しい腹痛と嘔吐は、原因が違うかも知れないと言うことに思い当たったのでしょうか？また、食中毒には毒素型と感染型があることを調べて来たのでしょうか？

さて、事例1の段階では自分がブロッコリーのアレルゲンに感作されたとは考えも及ばなかったK子さんですが、更にひと月後、お父さんと一緒に行ったレストランでブロッコリーのスープを食べて激しい腹痛が生じたことから、ブロッコリーと腹痛との因果関係を疑います。流石に研修医です。K子さんが皮膚科に行ったのは、アレルゲンによる感作の有無を皮内反応で調べて貰うためです。アレルゲンによる皮内反応については、平成21年度の事例で採り上げています。この年の事例を参照してみましょう。

プリックテストとは、皮膚表面にアレルゲンの溶液を滴下した後、その部位の皮膚を針で刺し、アレルゲンを皮内に吸収させて反応をみる方法です。一般に、アナフィラキシーや蕁麻疹(じんましん)など、即時型アレルギーの原因を検索するために行います。即時型の反応ですので、一般には針を刺してから15分から30分で判定を行います。皮膚テストにはプリックテストの他に、皮膚を少し引っ掻いた上にアレルゲン液を置いて反応を見る「スクラッチテスト」、アレルゲンを軟膏状、またはテープ状のものに含ませて皮膚に張りつけて、1～2日後に反応を見る「パッチテスト」(平成21年度の事例で採り上げた)などがありますが、強いアナフィラキシー反応を起こす患者では、皮内テストでもショックが起こることがあるため、スクラッチテストでも危険な場合があり、プリックテストから実施する方が安全とされます。

皆さんはこの段階で、K子さんがブロッコリーに対する食物アレルギーを発症しているのだと気付いたのでしょうか？即時型アレルギー反応によって腹痛や下痢が起こるメカニズムを自己学習することを期待していました。

事例3 (金曜日に提示)

K子さんはブロッコリー抽出物を用いたプリックテストが陽性でしたが、ダニ抗原やハウスダストなど、他のアレルゲンに対する反応は陰性でした。皮膚科の先生は、採血してブロッコリー抗原に対するIgEを測定しましょうと言いました。

K子さんは、そう言えば学生時代にIgEというのを習ったなと思い出しました。IgEにはどんな特徴があったのでしょうか？確か血液中には非常に微量しか存在しないはずだったと思いますが、そんな微量のIgEがブロッコリーの成分と反応するかどうかを、一体どうやって測るのだろうかに興味を湧きました。

□ 皆さんに挙げて貰いたかったキーワード

- ・ プリックテスト陽性
- ・ ダニ抗原
- ・ ハウスダスト
- ・ IgE
- ・ 血液中のIgE濃度
- ・ ブロccoliとの反応性
- ・ アレルゲン特異的なIgEの測定法

□ こんなことを考えてみましょう

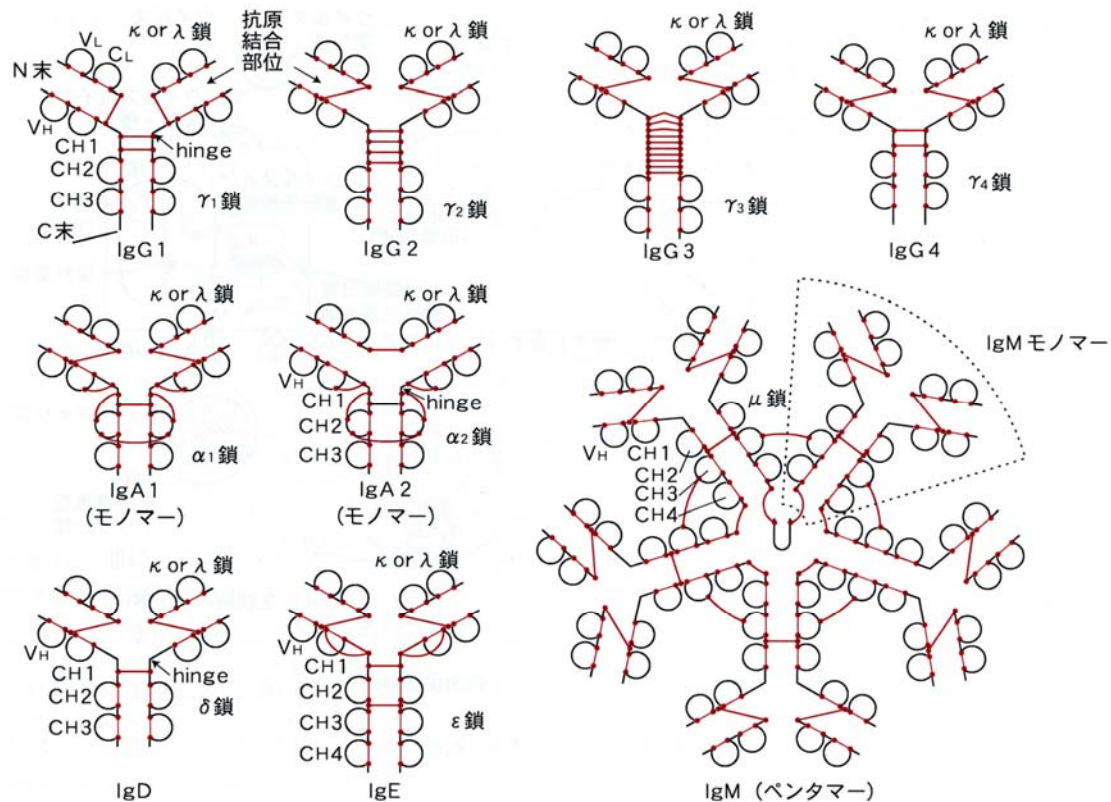
- ・ 講義で抗体分子の構造と機能は習ったよね
- ・ IgEの構造上の特徴は何？
- ・ IgEの血中濃度はどのくらい？
- ・ IgEはどんな機能上の特徴を持っているの？
- ・ IgEが結合する細胞は？
- ・ その細胞に結合したIgEが架橋されると何が起こるの？

解説

先ず、事例2について即時型アレルギー反応の発生機構を纏めて下さい。アレルギー反応の4分類と、それぞれの反応の詳細な細胞・分子メカニズムについては、このUnitの第3週で講義しましたが、ここでは即時型アレルギー反応について皆さんが自ら学習をしていくことを期待していました。

免疫グロブリン分子の基本構造と機能については、事例2の後、水曜日から木曜日午前中までの講義で詳しく学んでいます。IgE分子の構造上の特徴とその血中濃度が極めて微量であることを想起して下さい。免疫グロブリン分子のドメイン構造を描き、IgEの重鎖はIgMとともに定常部に4つのドメインを持つこと、C_H2ドメインがIgGのヒンジに相当することを再確認しましたか？また、成人血清中のIgEの濃度は10⁻⁵mg/mlのオーダーで、他のクラスの免疫グロブリン分子に比べ、1/1,000以下であることも重要です。

アイソタイプ	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgE
毒素・ウイルス中和	+	++	++	++	++	++	++	-
マクロファージFcレセプターへの結合	-	+++	±	++	+	+	+	-
補体活性化(古典経路)	+++	++	+	++	-	-	-	-
補体活性化(第二経路)	-	-	-	-	-	+	-	-
肥満細胞Fcレセプターへの結合	-	-	-	-	-	-	-	+++
上皮細胞 polyIgレセプターによる輸送	-	-	-	-	-	+	++	-
胎盤通過能	-	+++	+	++	±	-	-	-
サイトカインによるクラススイッチの誘導		IFN- γ IL-4 IL-10		IFN- γ IL-4 IL-10	IL-4 IL-13	IL-5 TGF- β IL-10	上皮細胞 APRIL	IL-4 IL-13



しかし、IgEは他のクラスの免疫グロブリンにない機能上の特徴を持っており、抗原と結合しない遊離の抗体分子の状態、マスト細胞や好塩基球の高親和性IgE Fc受容体(FcεRI)に強く結合することが出来ます。FcεRIを介してIgEを結合したマスト細胞が存在する条件下で抗原(アレルゲン)の再侵入が起こると、抗原によりIgEの架橋が起こり、FcεRIを介する活性化シグナルがマスト細胞内部に伝えられます。これによってマスト細胞は脱顆粒を起こし、顆粒内に予め蓄えられていたヒスタミンなどのケミカルメディエーターやIL-5などのサイトカインが放出され、細胞膜のリン脂質からプロスタグランジンやロイコトリエン、PAFが産生されます。これらのメディエーターの働きにより、消化管壁の平滑筋が収縮することにより腹痛や嘔吐が起こり、血管透過性の亢進による粘膜の浮腫と、上皮からの粘液産生促進により下痢が起こります。これらについてはUnit第3週で詳述しますが、この段階で基本的な理解を持って下さい。

特定のアレルゲンと反応する血清中のIgEを定量するには、標識抗体を用いた免疫測定法が用いられます。これは、基本的にはこのUnitの第2週で皆さんが実際に体験する、**ELISA法**と同じ原理を用いたものです。但し、IgEは他のクラスの免疫グロブリンと比べて格段に微量ですから、その特定抗原との反応性を検出し、定量するためには、特に高感度の方法を用いる必要があります。以前は放射性同位元素で標識した二次抗体を用いる放射免疫測定法であるRAST(radioimmunosorbent test)が用いられていましたが、その後酵素免疫測定法(enzyme-linked immunosorbent assay)の原理が用いられるようになり、現在では「第3世代」の測定法と言われるCAP-FEIA(**ImmunoCAP fluorezymeimmunoassay**)が普及しています。

CAP-FEIA法では、抗原を結合する固相としてセルロースを主体としたスポンジ状の

ImmunoCAPを用い、これに多くの場合サンドイッチ法により抗原を固定します。抗原の固定されたImmunoCAPに検体の血清を反応させ、よく洗った後(スポンジ状なので洗浄の効率が良い)、酵素標識した二次抗体を反応させ、再び洗浄した後、酵素反応により蛍光を発する基質を加えます。遠心によってスポンジ状の固相を取り除いた上清の蛍光を測定することにより、極めて高い感度で抗原特異的なIgEの濃度を測ることが出来ます。この方法は自動化が容易で、多数検体を同時に取り扱うことが出来、研究レベルでも複数抗原に対する抗体価の同時解析に用いられています。

事例4 (月曜日に提示)

K子さんの血液中にはブロッコリーの抗原成分に対するIgE抗体が検出され、ブロッコリーアレルギーであることが確定しました。これからは、大好きだったブロッコリーが食べられなくなるかと思うと、K子さんは少し悲しくなりました。

それにしても、子供の頃からたくさん食べてきたブロッコリーに対して、どうしてIgEを作るようになってしまったのでしょうか？花の咲いたブロッコリーを食べたことが何か問題だったのでしょうか？いや、そもそも毎日食べている他の食べ物に対しては、どうしてアレルギーが起こらないのでしょうか？

そう言えば、循環器内科の先生が、ヒトの心筋ミオシンに対してマウスで作った抗体を使って、組織切片を染めているのを見せて貰ったことがあります。その時、以前はウサギで作った抗ヒトミオシン抗体を使っていたと聞きました。ヒトのミオシンでマウスやウサギを免疫すると抗体が出来るのなら、ウサギの肉をヒトが食べると、ウサギのミオシンに対する抗体が出来るのでしょうか？牛肉はどうなのでしょう？K子さんはとても不思議に感じました。

□ 皆さんに挙げて貰ったかったキーワード

- ・ ブロッコリー抗原に対するIgE
- ・ ブロッコリーアレルギー
- ・ ブロッコリーが食べられない
- ・ 何故ブロッコリーに対するIgEが出来たか？
- ・ 他の食物に対しては何故アレルギー反応が起こらないか？
- ・ 心筋ミオシン
- ・ 組織切片
- ・ 免疫染色
- ・ ウサギで作った抗体
- ・ ウサギの肉を食べると抗体が出来るか？
- ・ 牛肉を食べると抗体が出来るか？

□ こんなことを考えてみましょう

- ・ K子さんは、ブロッコリー以外の食品に対してアレルギーはないのだろうか？
- ・ 牛肉や豚肉にはどのようなタンパク質が含まれているだろうか？
- ・ 牛肉や豚肉を食べていても、「拒絶反応」は起こらないの？
- ・ 牛乳を飲んだら牛乳の成分に対する抗体が出来ないのだろうか？
- ・ 抗体で組織切片を「染める」ってどういうこと？

解説

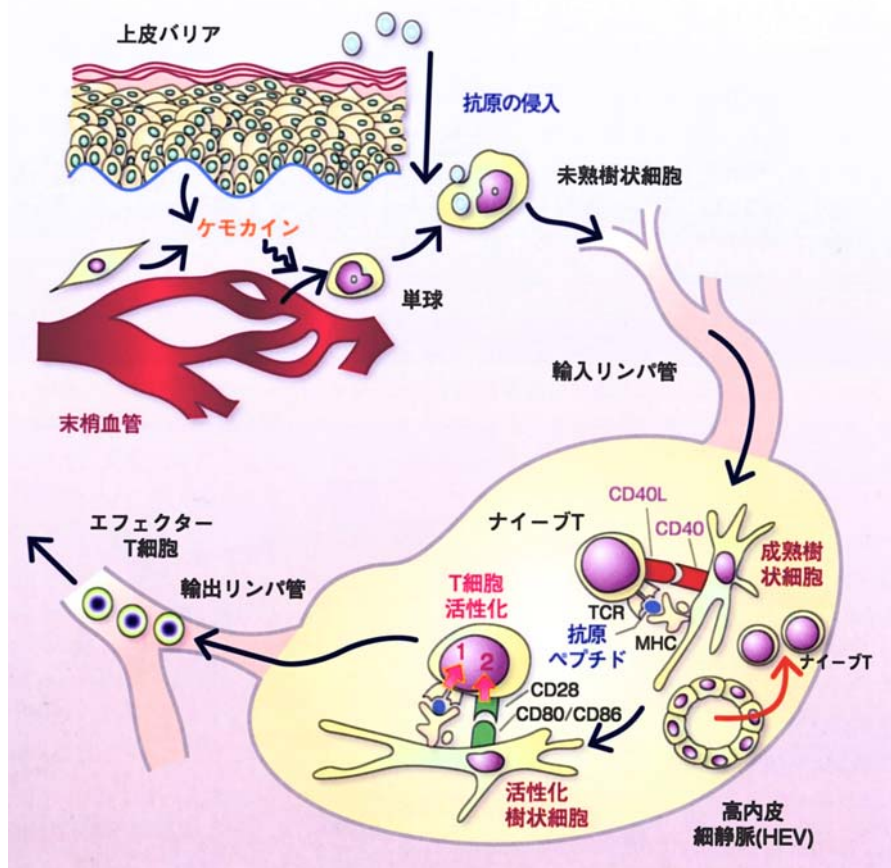
先ず、事例3に関してlgEの測定法を纏めましたか？自分たちが実習で行うELISA法の原理を予習してきたでしょうか？radioimmunoassay法やRASTについて調べて来ましたか？最新のCAP-FEIA法まで調べて来たひとがいるとすれば、大変に優秀です。「抗体を用いて抗体を測定する」という概念は、皆さんには意外に理解し難いようです。ヒトの免疫グロブリンとマウスやウサギの免疫グロブリンは、定常部でもアミノ酸配列が異なるので、ヒトの免疫グロブリン分子を「抗原」としてマウスやウサギに接種すれば、免疫されたマウスやウサギはヒトの免疫グロブリンに対する抗体(抗体に対する抗体)を作ります。

免疫組織化学法については、講義では詳しく触れませんが、このUnitの第1週で、既に皆さんは蛍光セルソーター法を経験しています。バラバラになった細胞ではなく、組織構造を保った薄切標本に抗体を反応させれば、組織中の対応抗原の分布が「染め出される」と言うことは理解できるでしょう。第3週の講義では、アレルギー病変組織における免疫複合体や補体の沈着を蛍光抗体法や酵素抗体法で染め出した標本を見せます。

さて、いよいよ今年度のチュートリアル の主要な目標である経口トレランスについて考えさせる段階となりました。経口トレランスのしくみについては、免疫学者の間でもまだコンセンサスが得られている訳ではなく、わからないことだらけです。しかし、事例に記したK子さんの疑問、即ち「ヒトの筋肉でウサギを免疫すれば抗体が出来るのに、何故ヒトがウサギの肉を食べても抗体が出来ないのか」と、K子さんがブロッコリーアレルギーを発症するようになるまでの経過、即ち冷蔵庫に長期保存されて花の咲いたブロッコリーを食べたことが引き金になったこととが、皆さんがこの問題を考える上でのヒントになると思います。

経口トレランスを考えると、一つの重要な因子はナイーブなTリンパ球の活性化に副刺激 (co-stimulatory signal) が必要なことです。

これまで一度も抗原刺激を受けたことのないナイーブなTリンパ球が最初に活性化するときには、T細胞抗原受容体(TCR)からのシグナルと同時に**CD28を介する副刺激**が入ることが必要です。この二つの刺激の存在下で、ナイーブなTリンパ球はIL-2受容体α鎖の遺伝子を発現し、同時に発現が上昇

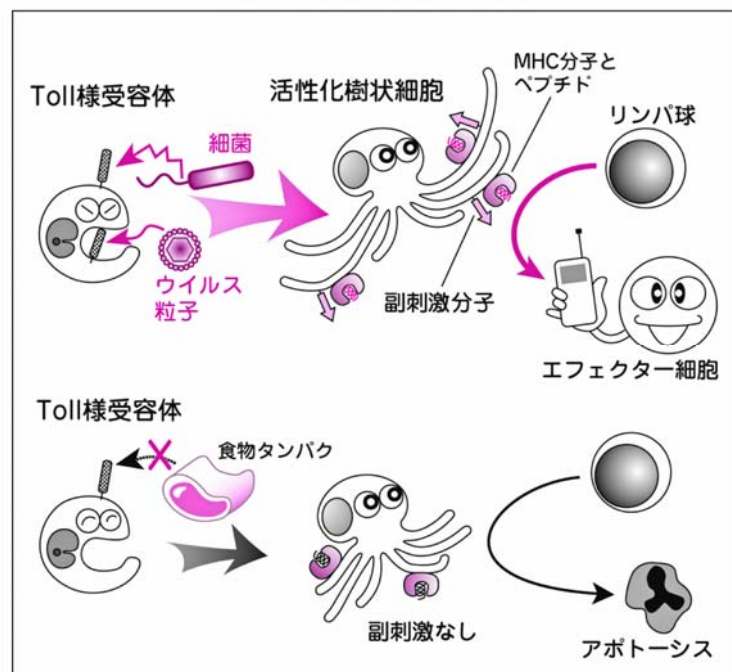


するIL-2の働きで分裂・増殖を始めます。抗原提示の時CD28のリガンドとなる副刺激分子、CD80/CD86を発現するのは樹状細胞などのプロフェッショナルな抗原提示細胞ですが、これらの細胞は常時副刺激分子を発現している訳ではありません。細菌やウイルスなどの病原体と遭遇したとき、抗原提示細胞はそれらの病原体が持つ特有の構造パターン(微生物関連分子パターン: **microbe-associated molecular patterns, MAMPs**)を、細胞表面や細胞質内、或いはエンドソームに存在するパターン受容体で認識します。MAMPsを認識するパターン受容体としては、細胞膜やエンドソームの膜に存在する**Toll-like receptors (TLRs)**や、細胞質に存在するnucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs)などがあります。細胞表面に存在するTLR1やTLR2は細菌細胞壁のペプチドグリカン、TLR4はグラム陰性菌外膜のLPSやグラム陽性菌のリポタイコ酸を、TLR5は細菌鞭毛のフラジリンを認識し、エンドソームのTLR3はウイルス複製過程の二本鎖RNAを、TLR7はウイルス粒子由来の一本鎖RNAを認識し、TLR9はメチル化されていない細菌やウイルスのDNA構造を認識します。これらTLRsからのシグナルが細胞内に伝わると、最終的にNF- κ Bの活性化を通じて樹状細胞内でナイーブT細胞の活性化に必要な遺伝子発現が起こり、副刺激分子が発現するようになります。こうして、病原性微生物が持つタンパク質抗原に対し、T細胞による免疫応答が始まる訳です。

ところが、食物由来のタンパク質は微生物関連分子パターンを持っていません。食物中の筋肉に含まれるかも知れないDNAは動物のDNAですから、TLR9は刺激しません。野菜など植物の細胞壁はセルロースが主体ですから、細菌の持つようなペプチドグリカンやLPSがある訳ではありません。このため、食物中のタンパク質が抗原提示細胞に取り込まれたとしても、TLRsを介する刺激は入らず、副刺激分子は発現しません。副刺激のない条件下では、たとえ食物タンパク質由来の抗原ペプチドを提示するMHC分子からTCRに刺激が入ったとしても、ナイーブなTリンパ球は活性化せず、むしろTCRだけから刺激が入ったナイーブT細胞は、その後活性化することのないアナジー(anergy)の状態に陥ると考えられています。

ヒトは年間に数トンの食物を摂取し、そのうちおよそ100kgはタンパク質でありながら、食物抗原に対して通常は免疫応答が起こらない理由の一つが、このようなTLR刺激の欠如です。

それでは、花が咲いてしまったブロッコリーを食べたとき、K子さんがその抗原に感作してしまったのは何故でしょうか？事例1で考察した通り、冷蔵庫で長く保管されて花が咲いた状態になったブロッコリーは、セレウス菌などの微生物に汚染されていた可能性があります。セレウス菌の毒素は消化管上皮細胞を傷害し、激しい嘔吐を起こさせます。セレウス菌の嘔吐毒素はイオノフォアのような構造を持っていますから、この時上皮細胞のバリア機能が障害され、ブロッコリーの成分とともに菌体成分



が上皮下の抗原提示細胞に接触した可能性があります。セレウス菌は鞭毛を持っていますから、鞭毛の成分がTLR5を刺激し、細胞壁の成分もTLR4を刺激したでしょう。こうして、細菌に汚染されたブロッコリーの抗原がTLR刺激によって活性化した抗原提示細胞に取り込まれ、ブロッコリータンパク質由来の抗原ペプチドと反応するTリンパ球が活性化された可能性があります。その後粘膜上皮のバリア機能が回復し、TLR刺激がなくなっても、粘膜固有層のリンパ管を通じて腸間膜リンパ節に達した微量のブロッコリー断片や細胞塊から、タンパク質抗原が漏出し続けた可能性があり、このような条件ではCD4陽性T細胞の分化はTh2に傾きますから、ブロッコリー抗原に対するIgE産生が起こってもおかしくはありません。

ところで、微生物関連分子パターンを持つのは、何も病原性の微生物だけではありません。ヒトの消化管内には 10^{14} もの常在微生物が共生しており、この数はヒト個体を構成する総細胞数の10倍を超えるばかりか、それら500～1,000種もの常在微生物が持つ遺伝子の総数は、ヒトゲノムの全遺伝子数の100倍にも達すると考えられています。これら消化管の常在微生物が持つ細胞壁や鞭毛の成分がTLRを刺激し、常在微生物由来のタンパク質でTリンパ球が活性化されることはないのでしょうか？

実は、それはないらしいと考えられています。その根拠の一つは、毎年学生の皆さん考えて貰っている血液型抗原に対する自然抗体の存在です。一生の間一度も輸血や移植を受けたことがなくても、ABO式血液型がA型の人の血清中にはB型抗原と反応する自然抗体があり、B型の人の血清中にはA型抗原に対する自然抗体があります。O型の人がA型糖鎖に対する自然抗体とB型糖鎖に対する自然抗体の両方を持ち、AB型の人はいずれの自然抗体も持たないことから、血液型抗原に対する抗体産生は「自己の持つ糖鎖抗原に対する抗体は出来ず、自己の持たない糖鎖抗原に対しては自然抗体が出来る」と解釈するのが正しいと言うことになります。この場合、抗体産生を誘導する非自己抗原は常在微生物の持つ糖鎖抗原であり、常在微生物はヒトのA型糖鎖に対応する構造もB型糖鎖に対応する構造も持つが、A型の人にはA型糖鎖に対する抗体は作らず、B型の人にはB型糖鎖に対する抗体は作らないと考えるのが合理的です。しかも、血液型抗原に対する自然抗体は原則としてIgMであり、異型輸血を受けた場合や母児間血液型不適合による感作を受けた場合を除き、IgGにクラススイッチすることはありません(従って、通常はABO式血液型に対する自然抗体が胎盤を通過することはありません)。クラススイッチにはヘルパーTリンパ球の存在が必須ですから、上記の事実は、常在微生物の抗原に対して感作されたTリンパ球が、通常は一生にわたって出現しないことを示しています。ヘルパーT細胞非存在下で、繰り返し構造を持つ細胞壁糖鎖によって抗体産生が刺激されるので、IgMだけが作られる訳です。

TLRを刺激できる構造を持ち、消化管内腔に膨大な数が存在する常在微生物に対して、にもかかわらずTリンパ球の感作が起こらないのは何故でしょうか？一つの理由とされているのは、粘膜上皮のバリア機能です。消化管粘膜の上皮細胞は、互いの接着面の頂上側近くにタイトジャンクションを持ち、細胞膜のタンパク質が細胞表面の特定の領域に局在しています。粘膜上皮細胞は通常TLR2やTLR4を発現することではなく、TLR5は発現していますが、その局在は細胞側面と基底側に限られています(内腔に面する頂上側には無い)。また、TLR3, TLR7, TLR9の発現はエンドソームに限られます。病原性の乏しい常在微生物は上皮細胞表面に接着する能力が低く、上皮頂上面の表面を覆う厚い粘膜層を超えて上皮と強く接触することはありません。また、タイトジャンクションを超えて基底側に達することも、上皮細胞の内部に潜り込むこともないので、TLRを刺激することがありません。しかし、粘液層を超えて移動できる強い運動性や上皮細胞に対する強力な接着能、或いは上皮細胞の傷害によるバリア機能異常を引き起こせる病原性の微生物は、タイトジャンクションを超えて上皮

基底側に侵入し、TLR5を介して上皮細胞を活性化したり、細胞内に潜り込んでTLR9を刺激したりする可能性があります。このような病原性微生物の侵入が起こると、上皮細胞はプロスタグランジンなどのケミカルメディエーターやTGF- β などのサイトカイン、ケモカインを産生して炎症細胞を引き寄せ、MAMPsにより抗原提示細胞が活性化されます。また、上記の経路で活性化された上皮細胞はBAFFやAPRILなどのBリンパ球分化・活性化因子を発現し、粘膜固有層や粘膜下層のBリンパ球をIgA産生細胞へと分化させます。

これが、常在微生物と病原性微生物を区別する一つのメカニズムと考えられています。

さらに最近では、常在微生物に対するTリンパ球の応答を積極的に抑制するしくみもあると言われています。小腸の粘膜固有層には樹状細胞がありますが、これら粘膜固有層の樹状細胞は上皮間に突起を伸ばし、その先端を消化管内腔に突き出しています^{4, 5)}。このような樹状細胞はケモカイン受容体CX3CR1陽性でCD103 (α_E インテグリン) 陽性という特徴を持ちますが、接触する周囲の上皮細胞が産生するIL-50 (thymic stromal lymphopoietin, TSLP: 胸腺髄質のHassall小体が産生するサイトカイン) の存在下で、上記CD103陽性樹状細胞はTGF- β を産生するとともにTLR発現が低下し、その状態で消化管内腔の常在微生物抗原を取り込んで腸間膜リンパ節に移動します。リンパ節でTGF- β 産生性のCD103陽性樹状細胞と接触し、その提示する抗原ペプチドを認識したナイーブTリンパ球は、平成19年度の事例で取り扱った**制御性Tリンパ球 (Treg)**へと分化し、同時に消化管粘膜へのホーミングに関係するCCR9と $\alpha_4\beta_7$ インテグリンを発現するようになって、粘膜におけるTリンパ球活性化を抑制していると言われます⁶⁾。

消化管におけるリンパ球活性化に、M細胞による粒子状抗原の取り込みや粘膜リンパ装置の果たす役割は講義でも触れますが、一方では常在微生物や食物由来のタンパク質に対してTリンパ球が感作されないようにするしくみが、リンパ装置とは無関係な粘膜上皮層とその周辺に備わっている訳です。

4) Artis, D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. **Nat. Rev. Immunol.** 8:411-420, 2008.

5) Ghosh, M.S. How intestinal epithelial cells tolerise dendritic cells and its relevance to inflammatory bowel disease. **Gut** 58:1291-1299, 2009.

6) Annacker, O., et al. Essential role for CD103 in the T cell-mediated regulation of experimental colitis. **J. Exp. Med.** 202:1051-1061, 2005.

事例5（金曜日に提示）

そう言えば、ヒトのミオシンでマウスやウサギを免疫して抗体を作るときは、単に抗原となるタンパク質を皮下や筋肉内に注射するのではなく、アジュバントと呼ばれるものと一緒に混ぜて接種するのだと聞いたことがあります。K子さんは、最近10歳以上の女性に接種が始まった子宮頸癌ワクチン「サーバリックス」は、アジュバントを含んでいるということを知っています。アジュバントというのは、一体どういう働きを持つのでしょうか？

□ 皆さんに挙げて貰いたかったキーワード

- ・ 免疫操作
- ・ アジュバント
- ・ 子宮頸癌ワクチン

- ・ サーバリックス

□ こんなことを考えてみましょう

- ・ 実習でマウスに免疫をするときアジュバントを使ったよね
- ・ 水酸化アルミニウムって憶えている？
- ・ 子宮頸癌ワクチンの接種が始まったのは知っているよね
- ・ 子宮頸癌の原因は何？
- ・ がんがワクチンで治るの？
- ・ ヒトのワクチンにアジュバントを使って、安全性に問題はないのだろうか？

解説

先ず事例4に対する自己学習の纏めをしっかりと行って下さい。TLRの機能を調べて来たでしょうか？ナイーブなTリンパ球の最初の活性化に副刺激が必要なこと、樹状細胞がTLR刺激を受けると副刺激分子を発現すること、副刺激無しでTCRのみからシグナルが入った場合、Tリンパ球はanergyに陥ることなどは、講義でも触れています。講義で得た知識を事例に当てはめ、K子さんはなぜ花の咲いたブロッコリーを食べて感作されたのかを合理的に説明することができるようにならなければいけません(=行動目標)。

事例4の解説の後半部分は、まだ免疫学者の間でも議論が続いている部分ですので、そこまで皆さんが理解する必要はありません。但し、膨大な数の常在微生物が持つ抗原に対して、通常Tリンパ球が反応しないのは、それを積極的に抑えるような仕組みもあるからだろうと考えることは必要です。以前の事例でTreg細胞を採り上げていますので、その話題が出ることも期待していました。

さて、事例5ではアジュバントを採り上げます。

前日(木曜日)の実習で、皆さんはマウスを抗原で免疫することを経験しています。その際、ハプテンを結合させたタンパク質抗原での免疫に際して、アジュバント(水酸化アルミニウム)を用いていますので、「アジュバント」という用語は耳にしていることになります。

実習の解説にも記載していますが、アジュバントには大きく二つの働きがあります。一つは、接種した局所に抗原を長期間にわたって留まらせ、タンパク質抗原を少しずつ放出させて、抗原提示細胞が繰り返しリンパ球を刺激するようにすることです。タンパク質抗原をただ単に皮下や筋肉内に接種しただけでは、血清や細胞表面・内部のタンパク質分解酵素の働きで、あっという間にバラバラになってしまい、抗原提示に用いられるのはごく一部だけという結果に終わります。これを避けるには、タンパク質分解酵素との接触を避けつつ、抗原を少しずつ放出して抗原提示細胞に取り込ませるのが良く、この目的で保水性の高いゲル状の水酸化アルミニウムや、鉱物油中に抗原の入った水溶液をミセル状に分散させたFreundの不完全アジュバントが使われます。

ただ、これらのアジュバントだけではTLR刺激が加わらないため、実際にはリンパ球感作の効率は良くありません。これまで何度も解説してきた通り、抗原提示細胞が初めてナイーブT細胞を活性化させるときには副刺激が必要で、副刺激分子の発現を誘導するにはTLRからの刺激が有効です。

そこで、有効なアジュバントにはTLRを刺激するような分子が加えられています。古典的なFreundの完全アジュバントでは、結核菌の死菌が混和されており、これがTLRsを強く刺激します。最近のワクチン研究でも、TLRを如何に効率的に刺激できるかがワクチンの有効性を左右するという考え方が支配的であり、特にウイルス中和抗体の産生やそのクラススイッチの

誘導にTLRシグナルが果たす役割が大きな注目を集めています。

さて、我が国でも接種が始まっている子宮頸癌ワクチンですが、その抗原の実体(HPV16とHPV18のL1タンパク質を発現する組換えバキュロウイルスを昆虫細胞に感染させ、産生されたウイルス様粒子を集めたもの)については既に昨年の事例で採り上げていますので、HPを参照して下さい。

サーバリックスは、上記のバキュロウイルス発現VLPにアジュバントを加えたものですが、用いられているアジュバントAS04は、実はアルミニウム塩にサルモネラ菌のLPSに由来するリピドAの誘導体を吸着させたものです⁷⁾。LPSはリピドAに多糖が結合したのですが、LPSのTLR活性化作用はリピドA部分で担われており、リピドA自体が極微量でTLR4を強く刺激します。SA04はリピドAの構造を一部改変し、TLR4の刺激作用を残したまま毒性を低下させたものです。従って、強い炎症誘起作用が残っており、接種局所でNF- κ Bが強く発現して、24時間以内にCD14陽性単球が集積し、続いて所属リンパ節に抗原を持った樹状細胞が出現します。サーバリックスの接種ではしばしば接種局所に疼痛が生じるほか、四肢の筋肉痛が続くなどの副反応が報告されています。

7) Didierlaurent, A.M., *et al.* AS04, an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. **J. Immunol.** 183:6186-6197, 2009.

事例6 (月曜日に提示)

久し振りに帰省したK子さんは、お母さんに自分がブロッコリーアレルギーになってしまったことを報告しました。すると驚いたことに、お母さんも2年程前からブロッコリーやアブラナ(食用の菜の花)に対してアレルギー症状を出すようになり、大好きなブロッコリーのサラダが食べられなくなってしまったのだと教えられました。

アレルギー反応が遺伝するのかなと思いました。

□ 皆さんに挙げて貰ったかったキーワード

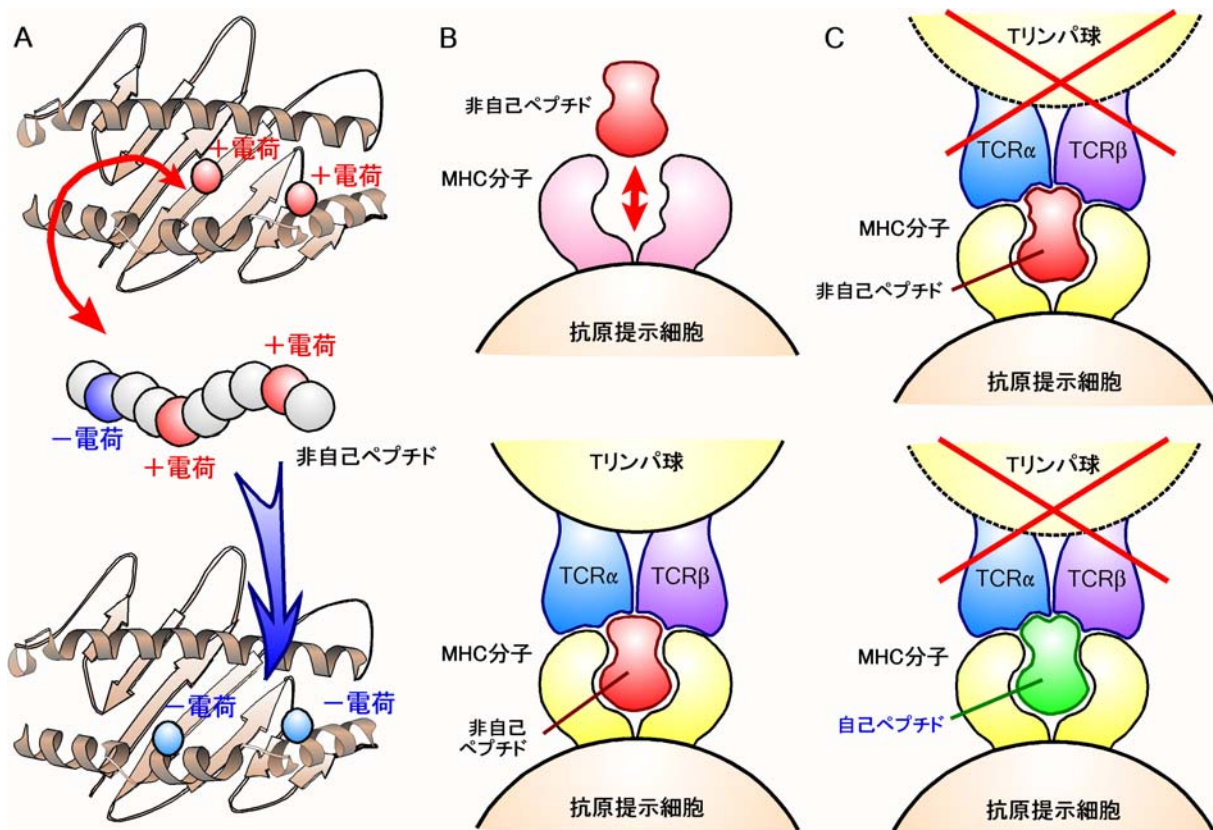
- ・ お母さんもブロッコリーアレルギー
- ・ アブラナ
- ・ 遺伝

□ こんなことを考えてみましょう

- ・ アレルギーは遺伝するのだろうか？
- ・ 病気になりやすさが遺伝するという話は聞いたことがないかな？
- ・ 感染症に対する抵抗性や、「自己免疫病」の発症と遺伝との関係は？
- ・ K子さんの他の家族はどうなのだろうか？

解説

先ず前回の纏めです。サーバリックスに含まれるアジュバントがリピドAの誘導体であり、TLR4を刺激するということを自己学習で見つけてきたのでしょうか？



さて、事例6でK子さんは、自分の母親も同じようにブロッコリーアレルギーを発症したと聞いて、アレルギーが遺伝するのかと疑問を持ちます。特定の抗原タンパク質に対して免疫応答を起こせるかどうかは遺伝的に決まっていることは、よく知られています。最も明確なのは「免疫応答遺伝子現象」で、MHC分子による特定抗原ペプチドの提示ができるかどうか(ペプチド結合溝に特定の抗原ペプチドが安定に結合できるかどうか)、または特定抗原ペプチドが結合したMHC分子の構造が、自己抗原ペプチドが結合した場合と区別できるかどうか、MHC遺伝子型によって決定されるという場合です。これについては、講義で詳しく説明しました。

アレルギー性疾患の発症に関わる遺伝的要因はこれだけではなく、IL-4受容体遺伝子の多型、IL-13遺伝子の多型、FcεRI遺伝子の多型、IL-21受容体遺伝子の多型(IgEレベルが高くなる)など、複数の遺伝子多型がIgEを介する即時型過敏症の発症要因となることが知られています。**OMIMサイトを検索してみましょう。**

但し、MHCに関連した遺伝子座以外の多型は、どのアレルゲンに対する免疫反応かに関係なく、全般的にTh2反応を高めたり、IgE酸性を高めたりするものですから、ブロッコリーの抗原に対するIgE産生だけが特異的に高いと思われる(事例3)K子さんの場合、矢張りMHCに関連した免疫応答遺伝子現象を考えるのが妥当でしょう。

因みに、この事例は宮澤の家族を下敷きにした事例ですが、宮澤本人はウルシやマカデミアナッツに対するIV型アレルギーがあり、家内と娘(K子)が実際にブロッコリーアレルギー、長男と次男には明かなナッツアレルギーやブロッコリーアレルギーは無いようです。MHCハプロタイプの遺伝形式から考えて、妥当なところだと考えます。