

## セッション1 免疫影響

### 免疫 神経 内分泌ネットワーク：環境シグナルと体内シグナルの相互作用

ヒューゴー O. ベセドフスキー、D. バルシュン、F. ビトシ、H. シュナイダー、A. デルレイ

ドイツ マールブルク・フィリップス大学

免疫サイトカインが神経 内分泌系のメカニズムに影響を及ぼし、また、それとは逆にホルモン、神経伝達物質、神経ペプチドが免疫機能に影響を及ぼすというデータが多くあることから、免疫 神経 内分泌間には相互作用があることが示唆される。

実際、無害な抗原によって免疫系が賦活化されることで、脳内の様々なニューロン群の活動や、免疫調節に関与する複数の神経内分泌系メカニズムに変化が生じる。これらのメカニズムが感染症、炎症、自己免疫疾患、悪性腫瘍の経過に関連することを示すデータが数多く存在する。末梢のサイトカイン類が神経 免疫調節回路を統括していることは明らかになっているが、脳細胞で合成されるサイトカイン類がこうした相互作用に関与している可能性を示すデータもある。

本講演では、末梢の免疫シグナルと中枢の神経シグナルの両者が脳内のサイトカイン産生を誘発し、これらメディエーターが脳の機能および体内信号と環境信号の統括において役割を担っていることを明らかにした研究を取り上げる。この研究の取組として、バクテリアエンドトキシンLPSによる末梢免疫細胞の刺激及びシナプス活動長期増強期(LTP)における海馬ニューロンの刺激を模擬的に利用した。

脳血液関門に影響を及ぼさず、かつエンドトキシンショックを引き起こさない程度の低用量のバクテリアLPSを投与より、脳内のIL-1、IL-6、TNF、IFN 遺伝子の発現を誘発した。IL-1およびIL-6のmRNA転写物は、主に視床下部と海馬において、その蓄積量が増加していることが観察された。IL-1およびIL-6の転写物については、その蓄積量の増加は主に視床下部と海馬で観察されたが、TNFとIFN 遺伝子の発現は視床下部 線条体が強かった。サイトカインは脳皮質においてはほとんど誘導されず、脳室周囲器官においてはこれらメッセンジャーの選択的な発現は見られなかった。

ある種のタイプの学習や記憶の基礎プロセスであると考えられているシナプス活動長期増強期LTPにおいて、IL-1とIL-6の遺伝子発現は顕著に増加したが、TNF $\alpha$ の発現には増加はなかった。この増加は*in vivo* (生体内)でも*in vitro* (生体外)でも確認されており、長期間持続し、増強に特有なものである。また、NMDA-グルタミン酸受容体を封じることにより、この増強は阻害される。さらに、IL-1受容体を、特異的な天然インターロイキン 1受容体のアンタゴニスト(IL-1ra)で封じると、LTPの誘導は影響されないが、LTP維持が逆に障害される。その反対の作用である増強維持の抑制は、脳のIL-6を特異的な中和抗体で封じた時に観察された。

以上の結果は、脳におけるサイトカイン産生が末梢の免疫信号および中枢の神経信号の両方によって誘導されうることを示している。このようにサイトカインに対して二重制御があることから、中枢神経系CNS 免疫系間のコミュニケーションのいずれかの段階は、サイトカイン産生細胞(グリアやニューロン)と刺激を受けたニューロンとの間の相互作用によって成り立っているということが想定される。こうしたコミュニケーションは、バランスがうまくとれば、体内および環境の変化に対する適応に寄与するものであり、それゆえに健康と疾患の境界の決定に関与している。

## 低用量曝露による健康障害の免疫学的側面

坂部 貢

社団法人 北里研究所

北里大学

- 1) 目的: 環境化学物質(内分泌攪乱化学物質も含めて)の低用量曝露による健康障害(例えば化学物質過敏症候群、化学物質不耐症など)の免疫器官に対する影響を検討する。
- 2) 概略: 環境化学物質の低用量曝露症候群に対する種々の免疫学的パラメーターは、本症の免疫機能を客観的に評価するのに有用である。
- 3) 結論: 環境化学物質の低用量曝露による健康障害では、明らかに免疫応答の攪乱が認められる。

### 緒言

化学物質過敏症候群のような低用量曝露による健康障害を有する患者の免疫学的側面については不明な点が多い。そこで内分泌攪乱化学物質も含めた有害環境化学物質の免疫系に対する影響を明らかにしようと試みた。

### 免疫学的解析

有害環境化学物質の免疫系に対する曝露影響について、TおよびBリンパ球数、サブセット解析、ならびにDNAフローサイトメトリー解析(FCM-DNA)を主として行ない、低用量曝露症候群(化学物質過敏症候群; CS)における免疫学的解析の有用性について検討した。

北里研究所病院・臨床環境医学センターに受診し、CSと診断された患者221名について免疫学的解析した結果、26%の患者でリンパ球の百分率が低下していた。また、34%の患者で、CD4リンパ球の相対的増加が認められ、36%の患者で、CD8リンパ球の相対的減少が認められた。結果、CD4/CD8比が増加した。さらに、6%の患者で未熟リンパ球(胸腺細胞)の出現が有意に高かった。加えて、リンパ球のDNAフローサイトメトリー解析の結果、11%の患者で、異数性パターンを認めた。しかしながら、Bリンパ球に関しては、健常者と比して有意な異常は認められなかった。

### 結語

今回の結果から、CSのような低用量曝露症候群では、CD8リンパ球が抑制され、その結果、CD4/CD8比が増加する傾向のあることがわかった。これらのことは、低用量曝露による人の健康影響の評価に、免疫学的解析が極めて重要であることを強く示唆しているが、その臨床医学的な解釈、即ち、どのような作用機序で微量環境化学物質が免疫系を攪乱するかについての詳細を得るためには、更なる研究が必要である。

## PCB類の健康への作用：免疫系

## ヘンク ヴァン ロバレン

オランダ 国立保健環境研究所

ポリ塩化ジベンゾ-p-ジオキシジン類PCDDs、ポリ塩化ジベンゾフラン類PCDFs、ポリ塩化ビフェニル類PCBsなどのポリハロゲン化芳香族炭化水素は、環境中に残留する汚染物質であり、哺乳類の免疫系に影響を及ぼすことが明らかにされている。そうした作用は特に平面型構造を有する化合物で注目されており、ほとんどのデータはげっ歯類による研究によって得られたものである。これらの研究から、この種の化学物質の主な標的は胸腺内の上皮であることが明らかになった。この上皮の働きにより、前駆細胞から成熟T細胞への成熟・分化が遂げられる。げっ歯類の研究においては、TCDD(四塩化ジベンゾ-p-ジオキシジン)による曝露についての形態学的指標は胸腺の退縮であり、その結果、機能としては細胞性の免疫反応が低下する。また、特に免疫系の発達はTCDDに影響を受けやすく、したがって胎内での曝露は特に関連が深いと予想される。

TCDDに対するし意図的な曝露実験は、ヒトを対象にすることができないため、ヒトの胸腺への*in vivo* (生体内)での影響を調べるのは容易ではない。重症複合免疫不全(SCID)マウスの腎臓被膜下に胸腺を移植したモデル動物実験によれば、ヒトの胸腺組織はげっ歯類の胸腺組織と同程度のTCDD感受性を有していることが示されている。

小児を対象とした疫学研究によれば、PCB類の環境曝露濃度(臍帯血もしくは母乳中の濃度)は、ワクチンに対する抗体反応の低下および感染症発生率の増加と関連しており、このような免疫系の発達に影響を及ぼす曝露と、その後の個体群の健康に関係があるということが予測される。

野生生物においても、この種の影響が報告されている。1980年代半ば、オランダ、デンマーク、ドイツの近海であるワッデン海のアザラシ群の間にジステンパー型ウイルスが蔓延したのは、PCB類を含む汚染物質に曝露した結果、免疫機能が低下したことも一因とされてきた。バルト海産の汚染ニシンを捕食するアザラシと、大西洋産の比較的清浄なニシンを捕食するアザラシの両方を捕獲するという、準野外調査によってこの説の正しさが確認された。アザラシに相当する曝露量を実現させるために魚油や凍結乾燥ニシンを与えてげっ歯類を曝露させ、そのげっ歯類に感染病原体を接種させた実験では、曝露によって感染症に対する抵抗力の機能性が変化し、アザラシで観察されたのと同様に免疫への作用によって最終的には疾患抵抗力が低下することが示された。このことから、80年代にアザラシ群で発生した重症疾患の流行は重度の汚染が一因となっているとの説の信憑性が強まった。

従って、被験汚染物質は、環境中で曝露されうるレベルにおいて、ヒトや野生生物群の免疫系の機能さらには健康や疾患に有害な影響を及ぼす可能性があることが結論づけられる。

## ダイオキシンの免疫機能抑制作用とその標的細胞

野原 恵子、遠山 千春

独立行政法人 国立環境研究所、CREST

ダイオキシン (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDD) は、生殖系や内分泌、脳機能・行動および免疫系に影響をおよぼすことが動物実験で明らかにされている。これらの作用の大部分は、TCDDによる転写因子arylhydrocarbon receptor (AhR) の活性化を介すると考えられている。活性化したAhRはarylhydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT) とヘテロダイマーを形成し、遺伝子の発現調節領域にあるxenobiotic responsive element (XRE) 配列に結合して遺伝子発現を変化させたり、また最近の研究では、AhR/ARNTヘテロダイマーがエストロゲンレセプターを直接活性化することも報告されている。

TCDD曝露による免疫系への影響としては、重要な免疫細胞であるCD4 T細胞とCD8 T細胞が分化・成熟する器官である胸腺の萎縮や、胸腺内のCD8 T細胞の比率が増加することがよく知られている。しかし、このような胸腺の変化が末梢の成熟T細胞の比率を変化させるという明らかな結果は得られておらず、免疫機能に対して悪影響を及ぼすかどうかは明らかにされていない。

一方、TCDDは抗体産生や細胞傷害性T細胞活性などの免疫機能を低下させることが明らかにされている。TCDDによる抗体産生の抑制については、これまでは短寿命-抗体産生細胞 (APC) への影響が主に研究されており、TCDDはAPCに作用して抗体産生を直接抑制することが示唆されていた。これに対して、私達はより効果的な抗体産生を行う長寿命APCに対するTCDDの影響について、C57BL/6マウスで検討を行った。その結果、TCDDはB細胞が長寿命APCに増殖・分化する場である胚中心の形成を抑制することが明らかとなった。このことは、TCDDが長寿命APCや、また胚中心で成熟するメモリーB細胞の産生をも阻害し、持続的に抗体産生を抑制することを示唆した。さらに私達の研究で、TCDDがB細胞のAPCへの増殖・分化において重要な働きをするTh2サイトカインの産生を抑制することが明らかとなった。またTCDDがT細胞の活性化およびTh2細胞への分化、増殖を抑制することも示唆され、その結果Th2細胞由来のサイトカイン産生が減少し、胚中心におけるAPCの増殖・分化が抑制されることが示唆された。この研究結果は、TCDDによる抗体産生抑制の直接の標的がT細胞である可能性を示した。

そこで私達は、AhRのconstitutive active 変異体をCD2プロモーターによってT細胞に発現させたトランスジェニック (Tg) マウスを作成した。予備検討の結果、このTgマウスでは、TCDD曝露した動物で観察されるような胸腺の萎縮とCD8 T細胞の比率の増加がみられ、TCDDによる胸腺の変化は胸腺細胞におけるAhR活性化の直接の結果であることが示された。今後はこのTgマウスにおいて抗体産生の抑制をはじめとする免疫抑制が見られるかを観察し、T細胞におけるAhRの活性化が免疫機能抑制の主要な標的であるかどうかを明らかにする予定である。

## 環境化学物質の免疫系に及ぼす影響

稲寺 秀邦

東京大学

環境化学物質の免疫系への影響、その分子機構についての知見は現在まで十分でない。われわれは、環境化学物質のサイトカイン産生に及ぼす影響を検討している。はじめに、エストロゲン様作用を有することが報告されている Bisphenol-A (BPA)、Nonylphenol (NP) のケモカイン分子 Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) 産生に及ぼす影響、及びその作用分子機構を培養細胞を用いて検討した。ケモカイン (chemokine) は chemotactic cytokine を短縮した造語であり、内因性の白血球遊走・活性化作用を有するポリペプチドの総称である。MCP-1 は単球の遊走、活性化能を有するケモカインであり、免疫反応において重要な役割を演じている。ヒト乳癌細胞株 MCF-7 を IL-1 にて刺激すると、72 時間まで培養上清中 MCP-1 濃度は直線的に増加する。IL-1 刺激と同時に  $17\beta$ -estradiol (E2)、BPA、NP を添加すると濃度依存的に MCP-1 の産生は抑制され、その濃度効果は E2 に比べ BPA、NP では約 1 千分の 1 から 1 万分の 1 であった。E2 および BPA、NP 添加により MCP-1 RNA の発現量は低下した。次に環境エストロゲンによる MCP-1 産生抑制の分子機構を検討した。MCP-1 遺伝子の発現調節領域には estrogen-responsive element のコンセンサス配列は認められない。詳細な検討により、環境エストロゲンが MCP-1 産生を抑制する機構のひとつとして、MCP-1 遺伝子 5' 領域に存在する NF- $\kappa$ B サイトを介したものであることが明らかとなった。

環境化学物質のなかでも免疫系に影響を及ぼすものとしてダイオキシン類が知られている。ダイオキシン投与により特定臓器において、どの程度の遺伝子の発現が変動するかは十分明らかにされていない。われわれは SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) 法を用いて 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 投与のマウス肝臓遺伝子発現に及ぼす影響を包括的に検討した。非投与肝 56,420 個、投与肝 56,647 個、合計 113,067 個の転写産物を解析した結果、投与・非投与群間で 346 個の遺伝子の発現変動を認めた。従来報告されていた薬物代謝酵素やストレス応答遺伝子に加えて、細胞骨格関連遺伝子、酵素、核内因子なども幅広く変動を示し、TCDD は従来考えられていたよりもはるかに広範で複雑な遺伝子発現変動をもたらすことが明らかとなった。

われわれは SAGE の結果を踏まえ、ダイオキシン応答遺伝子、薬物代謝酵素、炎症関連遺伝子等をスポットしたマウス肝臓 DNA チップを作成した。このチップを用いて環境化学物質の遺伝子発現に及ぼす影響についても検討しており、その結果も合わせて報告したい。