

# 免疫バランス制御法の開発とその医薬バイオ製品開発への応用

西村 孝司 [北海道大学遺伝子病制御研究所／教授]

幸田 敏明 [北海道大学大学院理学研究科／教授]

松崎 順子 [北海道大学遺伝子病制御研究所／特別研究員]

小砂 憲一 [(株)アミノアップ化学／代表取締役]

袁 嵐 [(株)アミノアップ化学／研究員]

我妻 千尋 [(株)アミノアップ化学／研究員]

## 背景・目的

先進国においては免疫バランスの破綻により、アレルギーや易感染性の人口が年々増加しており、近い将来、虚弱体質の人口増加が危惧される。本研究では、免疫バランスの制御に関わるTh1、Th2細胞の機能調節に関する研究を、遺伝子、タンパクレベルで展開し、免疫制御メカニズムを明確にするとともに、その疾病発症における意義を明確にさせる。また、健康食品の原料あるいは北海道第一次産業資源からの有効成分のスクリーニングを免疫バランスをターゲットとして行う。本研究の遂行によって、アレルギー、癌などの予防や治療に有効な新しいバイオ医薬の開発を目指す。

## 内容・方法

- ①OVA特異的なTh1あるいはTh2をBALB/cマウスに尾静脈より移入した。その翌日から、3日間OVA溶液を肺に吸入させ気道アレルギーを誘発した。最後の吸入の翌日に気道過敏性を評価した。また、気管支肺胞洗浄を行い、肺に浸潤した細胞の解析やサイトカインの測定に用いた。肺組織は、染色し病理学的検討を行った。
- ②マウスにOVA-Lipを尾静脈から投与し、その2時間後にTh1細胞を尾静脈から移入することにより肝障害を誘導した。肝障害の発症は、Th1細胞の移入から16-24時間後のAST、ALT値を測定することにより評価した。肝組織は、染色し病理学的検討を行った。
- ③マウスの骨髄細胞をTh1条件(BMDC1)、Th2条件(BMDC2)、ニュートラル条件(BMDC0)で培養してBMDC各サブセットを得た。MBDC1が最もTh1とTc1誘導能に優れていたことから、DCワクチン療法に用いた。すなわち、担癌マウスにBMDC1と不活化癌細胞、Th1と腫瘍内に摂取したときの抗腫瘍効果について検討を行った。

## 結果・成果

- ①Th1細胞あるいはTh2細胞を移入した後抗原を吸入させた際のメサコリンに対する気道過敏性は両群とも上昇が認められた。肺への浸潤細胞を調べた結果、Th1細胞を移入した群では好中球の浸潤が認められたが、Th2細胞を移入すると好酸球の浸潤と粘膜の沈着がみられた。このことから、Th1細胞を移入した場合においても気道アレルギーが発症

すること、Th1細胞とTh2細胞は全く異なるメカニズムで気道アレルギーを発症させていることが明らかとなった。また、Th1細胞依存的気道アレルギーも出るにおいて主にTh1細胞から産生されるIFN- $\gamma$ は好中球の浸潤を促進し、好酸球の浸潤と粘液の沈着を抑えることがわかった。この免疫疾患モデルの免疫バランスの制御物質の評価系としての有用性を確かめる目的で、CpGオリゴヌクレオチドの投与によるTh2細胞依存的気道アレルギーモデルへの影響を調べた。その結果、CpGオリゴヌクレオチドを投与した場合、気道過敏性は有意に減少し、好酸球の浸潤や粘液の沈着といった症状も緩和されることが分かった。

- ②OVA-LipとTh1細胞をBALB/cマウスまたはB10.D2マウスに移入して肝障害を誘導したマウスは血清トランスアミナーゼレベルが上昇し、肝障害が起きていることが確認された。そこで、Th1細胞の産生するサイトカインであるIFN- $\gamma$ とTNF- $\alpha$ の役割を調べた。抗TNF- $\alpha$ 抗体の投与により、肝障害はほぼ完全に抑制されることが分かった。一方、抗IFN- $\gamma$ 抗体の投与によりBALB/cマウスでは、肝障害は抑制されたが、B10.D2マウスでは、肝障害はかえって増悪した。Th1型マウスであるB10.D2マウスを用いた肝障害モデルにおいてIFN- $\gamma$ の役割を調べるために、C57BL/6マウスバックグラウンドの種々のノックアウトマウスを用いた実験を行った結果、IFN- $\gamma$ は肝障害のエフェクター細胞であるTh1細胞に傷害を与え、分裂を抑制することにより、肝障害を抑制していることが明らかとなった。

- ③誘導したBMDC1はBMDC0およびBMDC2に比べて、MHC Class I、MHC Class II、co-stimulatory moleculeの高発現およびIL-12の高産生能を示した。これらの細胞のTh1誘導能を調べたところ、MBDC1が最も優れていた。また、アロMLRによりCTL誘導能を調べたところ、MBDC1で刺激した脾臓細胞はBMDC0、MBDC2に比べて強いCTL活性と高いIFN- $\gamma$ 産生を示した。このことから、BMDC1は癌ワクチン療法に有用であることが示されたので、この細胞を用いて癌ワクチン療法を行った。担癌マウスにBMDC1と不活化癌細胞、抗原特異的なTh1細胞を腫瘍内に摂取し、癌の治療効果について調べたところ、BMDC1単独の投与では癌は完治しなかったが、Th1細胞との併用により、腫瘍の完全治癒が認められた。

## 今後の展望

今回の実験から、Th1/Th2バランスは疾患の発症、および治療に重要であることが明らかとなった。我々はTh1細胞およびTh2細胞を用いたアレルギー、肝炎モデルの確立に成功した。このことにより、アレルギーと肝炎のメカニズムの解明が期待できる。また、結果が安定で容易にモデルを作成できることから、それらの疾患の予防や治療に効果のある物質のスクリーニングや医薬の開発に今後有用であると考えられる。一方、癌治療におけるBMDC1/Th1セラピーは将来行われるであろう癌細胞治療における基礎を確立する上で重要な知見を示したと思われる。