

牛乳中に含まれる新生理活性物質の探索と同定

東京大学農学部教授

上野川 修 一

東京大学名誉教授

山 内 邦 男

牛乳中に含まれている免疫系に作用する新生理活性物質を評価する場合、これまで脾臓やリンパ節中のリンパ球が用いられてきた。しかし、牛乳が実際に体内に到達し、初めに接触するのは、腸管のリンパ球である。

この腸管のリンパ球は独特のものであり、上記した脾臓やリンパ節のそれとは異なっている。しかしながら、このリンパ球は現在、その培養法が確立されていない。本研究においてはこのリンパ球のクローン樹立のための研究を行なった。

まず最初に腸管リンパ球の特徴について述べておきたい。

小腸上皮内リンパ球—Intestinal intraepithelial lymphocytes (IEL)—中のT細胞はその細胞表面にある抗原たんぱく質に大きな特色がある(参考図)。すなわち、T細胞のうちかなりの部分がCD8⁺抗原をもち、T細胞抗原受容体は $\gamma\delta$ 型が多く存在している。これは、末梢血におけるT細胞の分布と大きく異なっている点である。

このIELの機能的な特徴としては、CD3⁺、CD8⁺、 $\gamma\delta$ T細胞のおよそ30%がインターフェロン γ 、インターロイキン5を産生し、腸管に特異的な抗体であるIgAの産生に重要な役割を果たしていること、そして、また $\gamma\delta$ 型T細胞は細胞障害活性をもっていることなどが明らかとなっている。

結果および考察

IELの増殖条件の検討

IELの増殖最適条件を検討するため培養したが影響は認められなかった(Table 4)。さらに、消化酵素であるトリプシンの影響も調べたが、IEL増殖に対する影響は認められなかった。

今後カゼインの小腸、特にIELに対する作用は検討されるべきである。

マウス IEL の構成 (参考図)

IEL T cell					
CD ³⁺				CD ³⁻	
CD ⁴⁻ CD ⁸⁺			CD ⁴⁺ CD ⁸⁺	CD ⁴⁺ CD ⁸⁻	CD ⁴⁻ CD ⁸⁻
$\gamma\delta$ TCR ⁺	$\alpha\beta$ TCR ⁺	$\alpha\beta$ TCR ⁺	$\gamma\delta$ TCR ⁺		

Fig. 1. IELの増殖条件の検討(1)

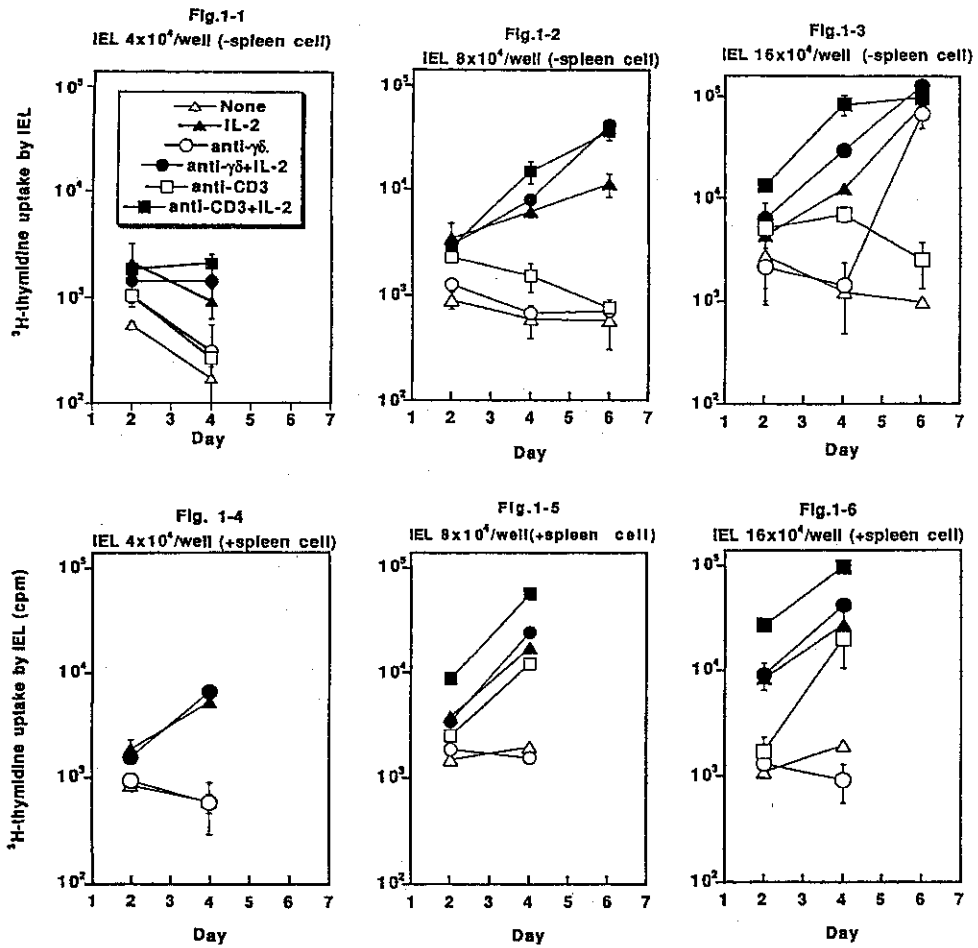


Fig. 2. IELの増殖条件の検討(2)

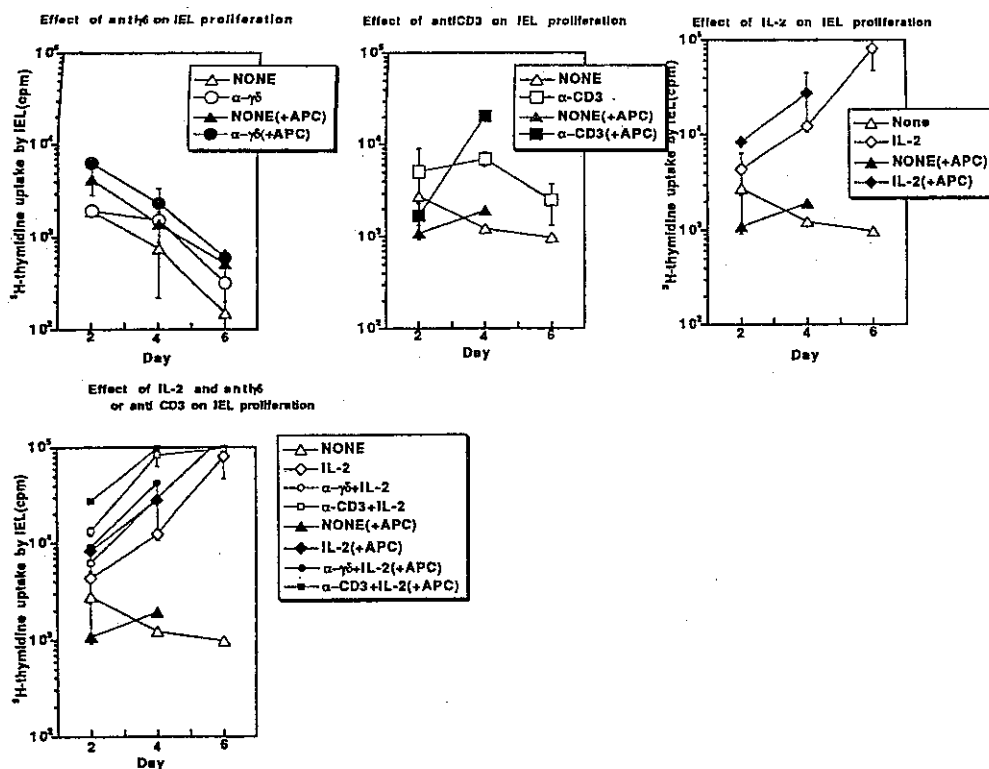


Table 1. 各種の刺激によるIELの増殖

	None	LPS	ConA	$\alpha-\gamma\delta$
-IL-2	282±29	3109±1126	1278±980	381±144
+IL-2	3706±784	8770±2389	882±40	16927±893

C57BL/6 (6週齢 2匹) よりIELを 2×10^6 個を採集した。これを 6.6×10^4 個/wellとして、IL-2 (500U/ml)、LPS $2 \mu\text{g/ml}$ 、Concanavalin A (ConA、 $10 \mu\text{g/ml}$ 、anti- $\gamma\delta$ ($100 \mu\text{g/ml}$) で刺激した。ただしanti- $\gamma\delta$ は個層化したものではない。

そしてこの細胞を4日間培養した。

Table 2. 増殖条件を検討した実験のまとめ

APC	IL-2	α -CD3	α - δ δ	Cpm
-	-	-	-	759・1232
-	-	-	+	1530・1433
-	-	+	-	6986
-	-	+	+	ND
-	+	-	-	12321
-	+	-	+	29253
-	+	+	-	83331
-	+	+	+	ND
+	-	-	-	1933・1390
+	-	-	+	915・2356
+	-	+	-	20448
+	+	-	+	ND
+	+	-	-	27925
+	+	-	+	42347
+	+	+	-	97630
+	+	+	+	ND

Table 3. カゼイン食マウスと普通食マウスのIELの個数

	1回目	2回目
CN食IEL	1.9×10^6 個	5.3×10^6 個
MF食IEL	5.12×10^6 個	1.0×10^7 個

Tbale 4. 抗原刺激によるIELの増殖

		None	α S1-CN	Tripitic-CN
CN食IEL	+APC	686 \pm 72	937 \pm 442	414 \pm 59
	-APC	584 \pm 106	685 \pm 312	883 \pm 588
MF食IEL	+APC	245 \pm 119	394 \pm 128	319 \pm 39
	-APC	ND	ND	ND