

口腔内カンジダ症の免疫学的研究 : *Candida albicans* 菌体成分の免疫応答への作用

北村和典

Effect of Cell Components from *Candida albicans* on Immune Response

Kazunori KITAMURA

The effects of cell components (Ca-m) obtained from *Candida albicans* on immune response of murine were investigated.

Intraperitoneal injection of Ca-m caused a significant increase in direct plaque-forming cell (PFC) numbers in the spleen, and a suppressive effect on delayed hypersensitivity in the footpad 3 days or 5 days after antigenic stimulation with sheep erythrocytes (SRBC), respectively.

Injection of Ca-m and SRBC together into congenitally athymic nude mice did not elicit a greater anti-SRBC PFC response than controls without Ca-m. The mice injected with Ca-m at the time of priming SRBC and then immunized with trinitrophenylated SRBC showed a greater anti-trinitrophenyl PFC response than controls without the injection of Ca-m.

In vitro proliferative response of T lymphocytes in the peritoneal exudate of C3H/HeN mice immunized with Ca-m and SRBC [T(Ca-m + SRBC)] was examined by determining the uptake of tritiated thymidine in to cells. Although the cells from mice which injected with SRBC only [T(SRBC)] showed a basal proliferative response in the absence of antigen, the addition of specific antigen increased the response sharply. However, the basal response of T(Ca-m + SRBC) disappeared. The basal proliferation was seen to be due to or dependent on the proliferation of Ia⁺ T cells.

The quantity of IL-4, but not IL-2, in the supernatant obtained from cultures containing T(Ca-m + SRBC) and anti-CD3 antibodies was higher than that of T(SRBC) and anti-CD3 antibodies cultures.

These results suggest that Ca-m have an adjuvant effect on the humoral antibody response and a suppressive effect on delayed sensitivity reaction on murine immune system, and these effects are mainly due to the enhanced induction of Th2 cells.

Key words : *Candida albicans*, suppressive effects, Th2

緒 言

*Candida albicans*はカンジダ症の重要な原因真

菌の一つである。このカンジダ症は悪性腫瘍、大手術や臓器移植あるいは細胞毒性物質や免疫抑制剤などの投与により免疫機能の低下した生体で、

受付：平成16年2月6日，受理：平成16年4月12日
奥羽大学歯学部口腔病態解析制御学講座
(指導：新田敏正教授)

Ohu University School of Dentistry, Department of
Oral Medical Science
(Director : Prof. Toshimasa NITTA)

*Candida*菌種の増殖により発症する日和見感染症であると考えられている^{1,2)}。したがって*C. albicans*に対する生体の防御機能は生体の持つ正常な免疫機能が担っていると言える。しかし免疫機能が低下した生体でなぜ*Candida*菌種のみが増殖できるのかは不明である。

*C. albicans*は感染後早期に認められる好中球の食作用に対して、脱顆粒阻害物質により殺菌作用に抵抗を示すことや多量のカタラーゼを産生し、殺菌物質である活性酵素の作用阻止などの抵抗能力を持つ^{3,4)}。結核症における結核菌⁵⁾やリステリア症におけるリステリア菌⁶⁾と同様に細胞内寄生菌としての能力を有している^{3,4,7)}。したがって感染初期の一般的な食細胞による感染防御の非特異的防御機構は*C. albicans*の排除に働かない。細胞内寄生菌に対する生体の防御機構は細胞性免疫機構に担われている⁸⁻¹¹⁾。

先天的胸腺欠損マウスを用いた実験やT細胞移入実験などから、*C. albicans*に対する生体防御機構は細胞性免疫が中心であると考えられている^{8,9)}。したがって生体の細胞性免疫能の低下が*C. albicans*の増殖を誘導しカンジダ症の発症の要因となると理解される。しかしそのような生体でなぜ*C. albicans*のみが増殖でき、カンジダ症を発症するのかは説明できない。

近年、*C. albicans*の菌体や細胞壁由来物質が免疫機能の調節に関連する活性を持つことが明らかにされた¹²⁻¹⁵⁾。特に幾つかの*Candida*菌種の刺激で免疫担当細胞(マクロファージ)よりケモカイン、炎症性サイトカインそしてIL-10やIL-12等の免疫調製性サイトカインの産生が示され、この生物活性がカンジダ症の誘発や進行に重要な役割を持つことが報告された¹⁶⁾。これらは*C. albicans*によるカンジダ症の発症機序を知るうえで重要な知見であろう。特に*Candida*菌種は*Candida*に特異的に生体の免疫回避する能力を持つことを示すものと考えられる。

本研究では*C. albicans*よりの生理食塩水抽出物(Ca-m)が液性免疫を増強し、細胞性免疫を抑制する作用を持つことを見出し、その機序を明らかにしたので報告する。

材料と方法

1. 実験動物

Balb/c系マウス(日本クレア株式会社, 東京), 5~10週齢の雄を使用した。胸腺欠損マウス(ヌードマウス)(nu/nu)とその同種マウス(nu/+)はBalb/cをバックグラウンドとするマウスとC3H/HeN系マウス(日本クレア株式会社, 東京)を5~8週齢で使用した。

2. 抗原

市販の羊及び馬の脱繊維血液をリン酸緩衝液(PBS)で洗浄したものを用いた。トリニトロフェニール(TNP)(和光純薬工業株式会社, 大阪)をハプテンとして用いた。

3. 使用菌株

講座保存の*Candida albicans* B 792株を使用した。

4. *C. albicans*の培養と培地

サブロー寒天培地で一定時間37°Cで培養後10,000×g, 10分遠心して集菌した。

5. Lipopolysaccharide (LPS)

LPSは*Salmonella typhimurium* LT₂株よりWestphalらのフェノール法¹⁷⁾にて抽出精製したものを用いた。

6. *C. albicans*よりの菌体成分(Ca-m)の抽出

平山の方法¹⁸⁾に準じて生理食塩水1ml当たり2×10⁸個の*C. albicans*菌体を浮遊させた菌液50mlをマグネットスターラー上に載せ4°C60分間攪拌し、遠心にて菌体を除いた上清を集め、蒸留水で透析後、凍結乾燥にて集めたものを菌体成分(Ca-m)として用いた。

7. シクロスポリンA(CsA)

自治医科大学微生物学教室中野昌康教授より分与されたものを用いた。

8. 抗体産生細胞の測定

1×10⁸個の羊赤血球(SRBC)あるいはTNP-SRBCをマウス腹腔内に注射器にて投与し、3日後の脾臓中のDirect抗SRBCあるいは抗TNP溶血斑形成細胞数(PFC)をCunninghamら¹⁹⁾の方法に従って測定した。

9. 遅延型過敏反応の測定

1×10⁵個のSRBCをマウス尾静脈内に投与し、

その5日後の右足蹠に 1×10^8 個のSRBC (0.2ml)を、左足蹠に生理食塩水を同量投与し、その24時間後の足蹠の厚さをノギスで測定し、左右の厚さの差を求めた。

10. 脾臓細胞の採集

マウスは頸椎脱臼により殺し、脾臓を取り出した。脾臓細胞は10%の牛胎児血清を含むRPMI-1640培地中で単細胞にほぐした後、細胞の凝集片を除くためにナイロンメッシュを通し、さらに3回洗浄後単細胞液とした。

11. T細胞, B細胞およびマクロファージの採集

10%プロテオースペプトン1.5mlをマウス腹腔内に投与し、その3日後に腹腔内滲出細胞(PECs)を集めた。このPECsを2gのナイロンファイバー(和光純薬工業株式会社, 大阪)を詰めたカラムに通し、このカラム通過細胞をT細胞群として用いた。また脾臓細胞を 1×10^6 cell/mlに調製した細胞浮遊液9mlに最終希釈濃度100倍になるように抗Thy抗体(Cedarlane Laboratories社, カナダ)を加え水中にて60分間静置した。静置後補体を最終希釈濃度10倍に加え、37°C 30分間静置し、10mlのSephadex G-10カラムを通過させたものをB細胞として使用した。マクロファージは 5×10^6 cell/mlのPECsを牛胎児血清をコートした10cmプレートに10mlを加え、3時間培養後にプレート付着細胞を集めた。

12. 細胞培養

10%に牛胎児血清を含むRPMI-1640培地(100U/ml Penicillinと100 μ g/ml Streptomycinを含む)を用い、96穴のマイクロプレート(U型)(Falcon, model; 3077, Becton Dickinson社, アメリカ)に一定数の細胞と一定濃度の抗原を共存及び非共存下で37°C, 5%CO₂-95%空気中の条件で48時間培養した。

13. 細胞活性化の測定

培養終了の20時間前に37KBq/wellの³H-サイミジン(³H-TdR)を培地中に加え、細胞内に取り込まれた³H-TdRの量を液体シンチレーションカウンター(Aloka社, Liquid Scintillation Counter)にて測定した。

14. 細胞上清の採取と上清中のIL-2及びIL-4活

性の測定

T細胞群を抗原の共存下と非共存下で48時間培養し、培養上清を遠心(2,000 rpm/7分間)して集めた。その培養上清を50%の割合に共存させた培地にてIL-2依存性細胞CTL(1 $\times 10^4$ 個)を48時間培養し、その活性化を3H-TdRの取り込みにて測定した。また上清中のIL-4活性もIL-2測定同様、培養上清共存下で抗IgM抗体とIL-4の刺激によるB細胞(1 $\times 10^5$ 個)の活性化を48時間培養し、3H-TdRの取り込みを指標に測定した。

15. 培養上清中のIL-2とIL-4量の測定

培養上清中のIL-2とIL-4の量を市販のELISA試薬opt EIA Set (Pharmingen社, アメリカ)を用い測定した。

結 果

1. 羊赤血球抗原(SRBC)に対するマウスの免疫応答に及ぼすCa-mの影響

*C. albicans*菌体成分であるCa-mの免疫応答に及ぼす作用を調べた。抗原として 1×10^8 個のSRBCと種々な量のCa-mを同時にマウス腹腔内投与し3日後の脾臓細胞中のSRBCに対する溶血斑形成細胞(direct PFC: IgM抗体産生細胞数)を測定した。対照としてCa-mの代わりにCsAを投与されたマウスのPFC数も測定した。その結果を図1.Aに示した。Ca-mを抗原と同時に投与されたマウスはCa-mの投与量に依存し、PFC数の増加が認められたが免疫抑制剤であるCsAを投与されたマウスは投与量に比例してPFC数の減少が認められた。

一方、 1×10^8 個のSRBCをマウス尾静脈に投与し、同時に種々な量のCa-mを腹腔内へ投与されたマウスの5日後の足蹠反応を調べるとCa-m投与量に比例して足蹠反応の著しい抑制が認められた(図1.B)。

2. Ca-mの抗体産生増強作用のT細胞依存性

Ca-mのSRBC抗原に対するマウスの抗体産生増強作用がT細胞依存性に行われているか否かを成熟T細胞欠損マウスであるヌード(nu/nu)マウスを用い調べた。その結果を表1に示した。SRBCを投与されたnu/nuマウスのSRBCに対す

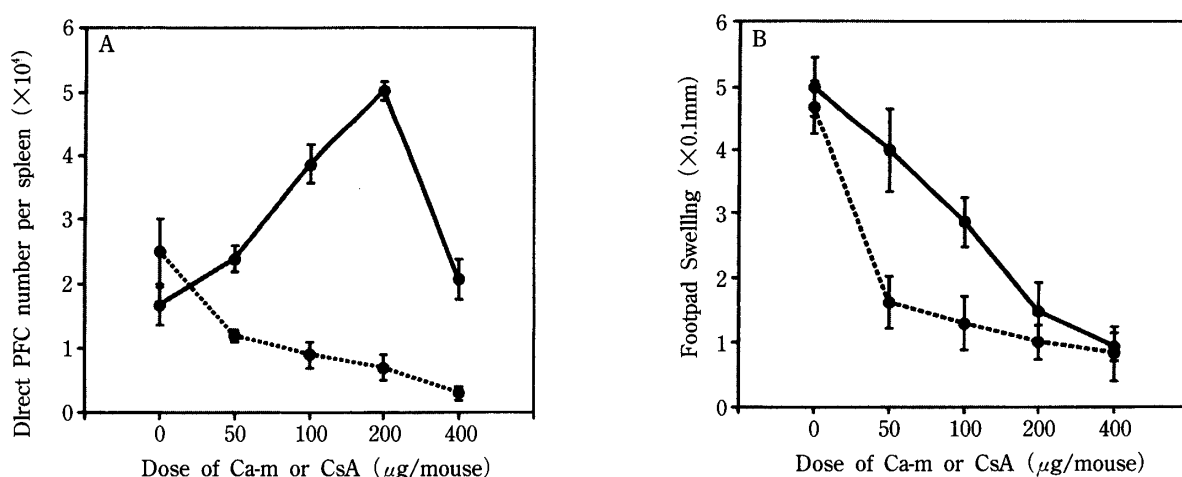


Figure 1. Dose effect of Ca-m or CsA on anti-SRBC PFC response (panel A) and delayed type (footpad) hypersensitivity (panel B) in C3H/HeN mice immunized with SRBC. Mice were immunized with Ca-m or CsA and/or 10^8 SRBC, and 3 days later direct PFC in the spleen were assayed mice. The mouse were immunized with Ca-m or CsA and/or 10^5 SRBC, and 5 days later their footpad (DTH) tests were controlled with 10^8 SRBC. Footpad swelling was measured at 24 hr. Swelling of feet injected with medium alone was subtracted from each value. Each dotum showed arithmetic mean \pm SD (3 mice/group).

Table 1. Effect of Ca-m on direct anti-SRBC PFC responses in the spleens of nu/nu and nu/+ mice

Group	Mice	Treatment	Direct PFC/spleen ^{a)} (Mean \pm SD ^{b)})
1	nu/nu	SRBC ^{c)}	1,440 \pm 170
2	nu/nu	SRBC + Ca-m ^{d)}	1,480 \pm 320
3	nu/nu	Ca-m	670 \pm 160
4	nu/+	SRBC	13,300 \pm 6,200
5	nu/+	SRBC + Ca-m	30,500 \pm 3,500 ^{e)}
6	nu/+	Ca-m	1,670 \pm 570

a) PFC was determined 3 days after the treatment

b) SD, Standard deviation

c) Total of 10^8 SRBC, i.p.

d) 200 μg , i.p.

e) $p < 0.01$ when compared with group 4 by student's t test

る抗体産生細胞数は少なくCa-mの増強作用も認められなかった。nu/nuマウスと同腹マウスで胸腺を持つnu/+マウスではSRBCに対する抗体産生とCa-mによる抗体産生増強が認められた。これらの成績はCa-mがT細胞依存性に抗体産生を増強させることを示すと考えられる。

3. ヘルパーT細胞の誘導に及ぼすCa-mの作用

抗原としてTNPを結合したSRBCを用い、ヘルパーT細胞の誘導に及ぼすCa-mの作用を調べた。10日前にキャリアーとしてSRBCのみ、SRBCとCa-mそしてCa-mのみを投与されたマウスおよ

び無処理のマウスにそれぞれTNP-SRBCを投与し、その3日後にTNPに対するPFC数を測定した。その結果を表2に示した。無処理のマウス群は一脾臓当たり2,290個のTNP-PFC数が認められ、SRBCのみ、SRBCとCa-mはそれぞれ無処理群に比べ2.2倍、7.4倍のPFC数の増加が認められ、Ca-mのみ投与群では0.7倍と減少していた。これらの成績はCa-mがヘルパーT細胞の誘導を増強したことを示すと考えられる。

4. Ca-mの抗原特異的T細胞の誘導に及ぼす作用

抗原特異的T細胞の誘導に及ぼすCa-mの作用

Table 2. Effect of Ca-m on carrier-specific T cells helping anti-TNP PFC response

Group	Priming (day 0)	Immunization (day 10)	Direct anti-TNP PFC/spleen (Mean \pm SD ^{a)} (day 13)	Ratio ^{b)}
1	None	TNP-SRBC ^{c)}	2,290 \pm 974	1.0
2	SRBC ^{d)}	TNP-SRBC	5,100 \pm 1,150 ^{e)}	2.2
3	SRBC + Ca-m ^{f)}	TNP-SRBC	16,900 \pm 4,240 ^{e)}	7.4
4	Ca-m	TNP-SRBC	1,500 \pm 500	0.7

a) SD, Standard deviation

b) Ratio = number of PFC in the experiment/number of PFC in control

c) Total of 10^8 TNP-coated SRBC, i.p.

d) Total of 10^8 SRBC, i.p.

e) $P < 0.01$ when compared with group 1 by student's t test

f) 200 μ g, i.p.

g) $p < 0.025$ when compared with group 2 by student's t test

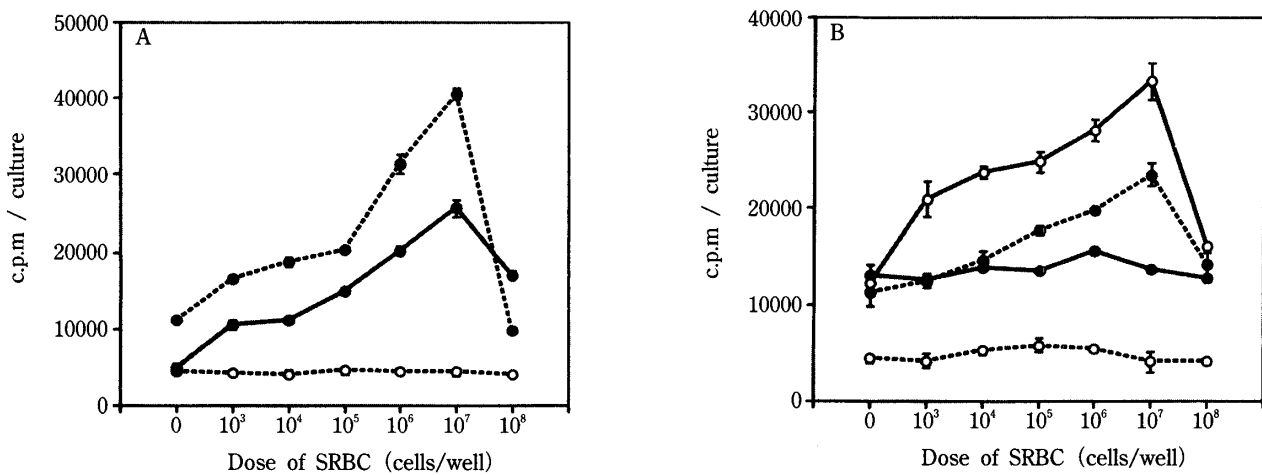


Figure 2. Antigen specific proliferative response of T cells that were primed in vivo with Ca-m and/or SRBC (panel A), CsA or LPS and/or SRBC (panel B). T cell that had been prepared from the PEC of C3H/HeN mice were cultured (1×10^5 cells/0.2 ml/well) in the presence or absence of SRBC (10^3 to 10^8 cells/well) for 48 hr. [3 H]-TdR was added to the culture 20 hr before the end of the culture period. Each symbol represents the mean value of triplicate cultures and standard deviation (SD). Panel A: T(None), -----○-----; T(SRBC + Ca-m), —●—; T(SRBC), -----●-----. Panel B: T(None), -----○-----; T(SRBC + CsA), —●—; T(SRBC), ---●---; T(SRBC + LPS), —○—.

を検討した。SRBCのみ、SRBCとCa-mを投与したマウス及び対照として無処理のマウスのPECsよりT細胞群を得た。これらのT細胞群をSRBC抗原と共に培養し、SRBC特異的T細胞の活性化を調べた。その結果を図2.Aに示した。また同様の実験をLPSとCsAについても行い、その結果を図2.Bに示した。

SRBCのみを投与されたマウスからのT細胞は抗原非存在下でも高い 3 H-TdRの取り込みを示し、SRBC存在下ではその量に比例して 3 H-TdRの取り込み量の増加が認められた。

Ca-mとSRBCを投与されたT細胞群はSRBCのみのものに比べ抗原非存在下の 3 H-TdRの取り込み量が著しく低下を示した。しかし抗原共存下での 3 H-TdR取り込み増強はSRBCのみ同様抗原量に比例し増加が認められた。無処理のマウス由来T細胞群は抗原共存下での 3 H-TdR取り込み増強は認められなかった。一方、LPSとSRBCを投与されたマウスからのT細胞は抗原非存在下での 3 H-TdR取り込みがSRBCのみのものと同様認められ、抗原共存下での 3 H-TdR取り込みはSRBCのみに比べ著しい増強が認められた。

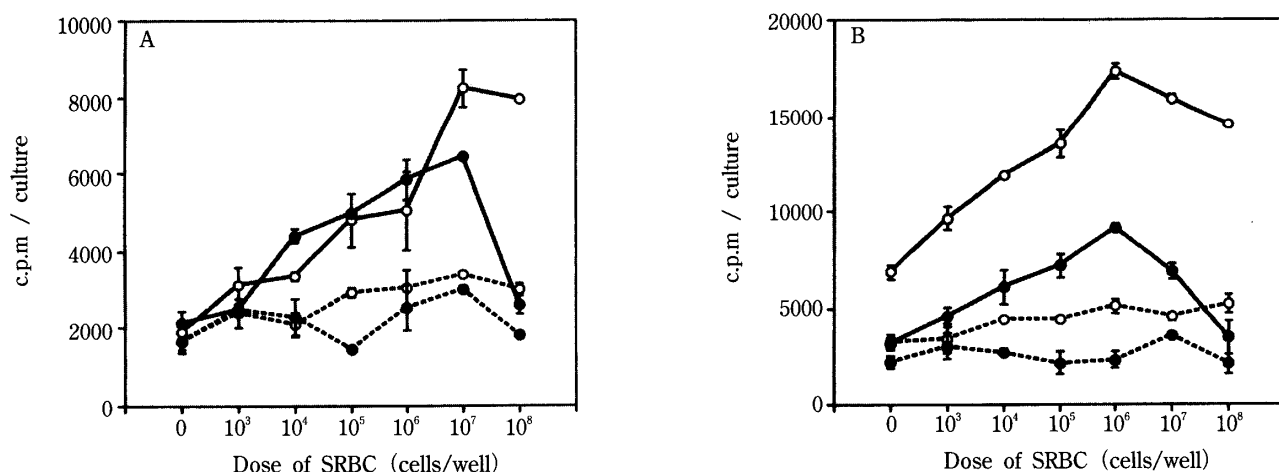


Figure 3. Proliferation of Ia⁺ cell- or Mac-1⁺ cell-depleted T(SRBC + Ca-m) cells in response to SRBC. The Nfc-passed T cells (1×10^5 cells/0.2 ml/well) that had been previously treated with C and anti-Ia⁺ antibody (panel A) or anti-Mac-1 antibody (panel B) were cultured alone (-----) or with macrophages (M Φ) (1×10^4 cells/well) (—) in the presence or absence of SRBC (10^3 to 10^8 cells/well) for 48 hr. [³H]-TdR was added to the cultures 20 hr before the end of the culture period. Each symbol represents the mean value of triplicate cultures and the SD. T(SRBC + Ca-m), -----●-----; T(SRBC + Ca-m) + M Φ , —●—; T(SRBC), -----○-----; T(SRBC) + M Φ , —○—.

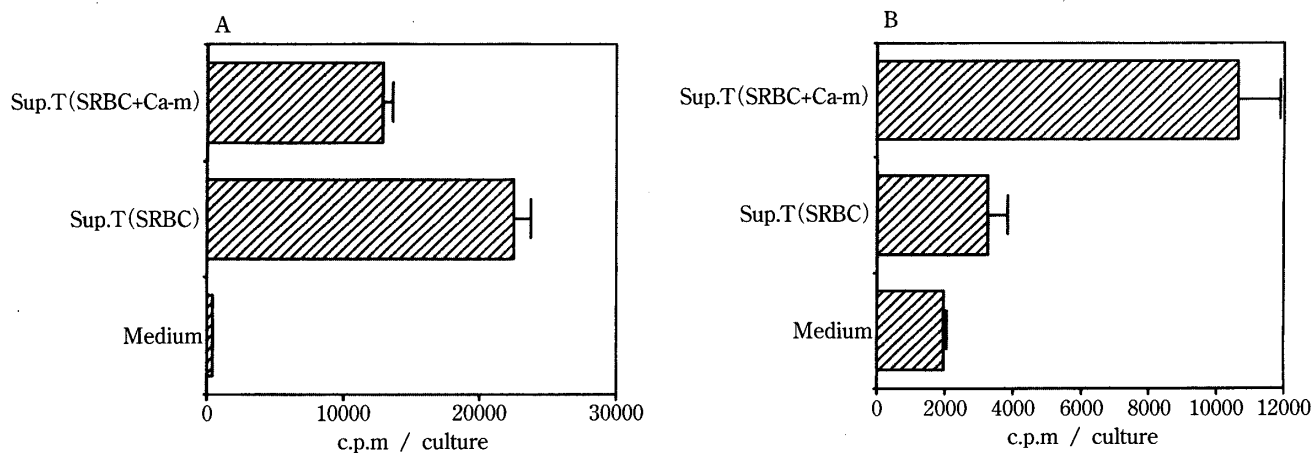


Figure 4. IL-2 or IL-4 activity in the supernatants obtained from the culture of T(SRBC + Ca-m) cells. The supernatants were obtained from the 20 hr cultures of the T cells (1×10^6 cells/ml/well) in the presence of SRBC (2×10^7 cells/well), IL-2 or IL-4 activities of the supernatants were assayed by using CTLL (panel A) and anti-IgM-treated B lymphocyte (panel B) respectively. Each bar represents the mean value of [³H]-TdR incorporation into CTLL or anti-IgM-treated B lymphocyte of triplicate culture and the SD.

CsA投与マウスからのT細胞群ではSRBC非共存下での³H-TdRの取り込みは同様に認められるが、抗原共存下で認められる³H-TdR取り込み増加は認められなかった。

5. Ca-mによるIa陽性T細胞誘導の抑制

先の実験4の結果はCa-mが抗原投与により抗

原刺激なしに活性化されるT細胞群の誘導を抑制する作用を持つことを示している。そこで抗原投与により誘導され、抗原非共存下で活性化されるT細胞が活性化に伴って出現するIa陽性T細胞か否かを検討した。実験4同様、SRBCのみ、SRBCとCa-mを投与されたマウスからのT細胞

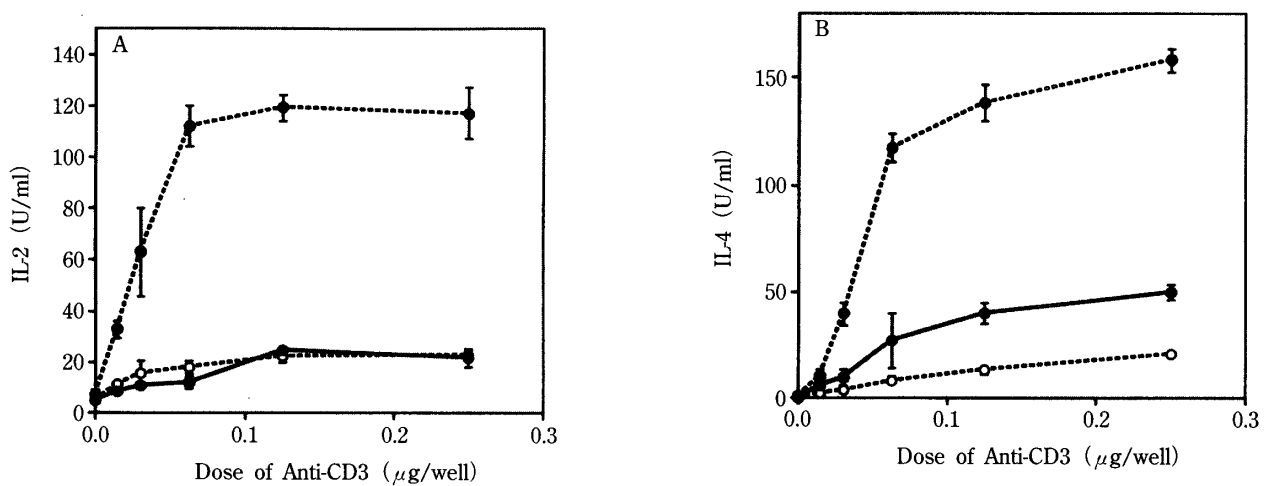


Figure 5. IL-2 and IL-4 production by T(SRBC + Ca-m) cells were cultured with anti CD3 antibody. T(SRBC), T(SRBC + Ca-m) or T(SRBC + LPS) (1×10^6 cells/ml/well) were cultured with or without anti-CD3 antibody (0.08 to 0.25 μ g) for 20 hr. The supernatants were collected at end of culture and IL-2 (panel A) or IL-4 (panel B) quantity in the supernatants were measured by ELISA. Each point represents the mean \pm the SD of triplicate cultures. T(SRBC), -----○-----, T(SRBC + Ca-m), —●—, T(SRBC + LPS), -----●-----.

群を精製した。

それらのT細胞群を抗Ia^k抗体と補体処理したもの、抗Mac-1抗体と補体処理したものとその処理後にマクロファージ(MΦ)を加えた細胞群をそれぞれ抗原共存下で培養し、³H-TdRの取り込みを測定した。その結果を図3.A・Bに示した。図に認められるようにSRBCのみ投与されたマウスからのT細胞群では抗原非共存下で認められた³H-TdRの取り込み(図3.A)は抗Ia処理により完全に消失し、抗原依存性に³H-TdR取り込み増加のみが認められた。抗Mac-1処理も同様の結果が認められ、SRBCのみ投与されたマウスからのT細胞群はMΦの共存下で抗原非共存下で認められた³H-TdRの取り込み増加は回復した。しかしCa-m投与マウスからのT細胞群ではその回復は認められなかった。

6. Ca-mで誘導された抗原特異的T細胞培養上清液のIL-2活性とIL-4活性

SRBCのみ、あるいはSRBCとCa-mを投与されたマウスからのT細胞群をSRBC共存下で48時間培養した培養上清をCTLLあるいは抗IgM処理B細胞培養に添加し、それぞれの細胞の活性化を測定した。その結果を図4.A・Bに示した。抗原とCa-mを投与されたマウスからのT細胞群の培

養上清はSRBCのみ投与されたマウスT細胞群に比べCTLL細胞の活性化が低下し、抗IgM処理B細胞の活性化を増強した。

7. Ca-mで誘導された抗原特異的T細胞のIL-2とIL-4産生量

SRBCのみ、あるいはSRBCとCa-mそしてSRBCとLPSを投与されたマウスからのT細胞群を抗TCRレセプター抗体(抗CD3)共存下で24時間培養しその上清中のIL-2とIL-4の量を測定した。その結果を図5に示した。SRBCとCa-mを投与されたマウスからのT細胞群はSRBCのみ投与されたマウスのT細胞群と同じく共存させた抗CD3の抗体量に比例してIL-2の産生が増加したが(図5.A)、その量に差は認められなかった。しかしIL-4の産生量はSRBCのみ投与マウスT細胞に比べ著しく高い値を示した(図5.B)。SRBCとLPS投与マウスT細胞はIL-2及びIL-4の双方共に産生量が著しく高い値を示した。

考 察

*C. albicans*の全菌体や細胞壁由来物質の生物活性については生体の抗腫瘍作用やナチュラルキラー(NK)活性の調節作用¹⁵⁾、アジュバント作用¹²⁾、lymphokine activated killer(LAK)様活

性¹²⁾, B細胞マイトージェン¹³⁾そして免疫寛容誘導¹⁸⁾などが報告され, *C. albicans*菌体成分が生体の免疫応答を賦活化する作用を持つことが示されている。さらに免疫応答の調節に関与するIL-10, IL-12やINF- γ の産生能についても報告され^{20,21)}, *C. albicans*菌体の持つ免疫調整能が明らかにされつつあり, 免疫回避機構の一端が知られるようになっていく。

本研究では抗原として羊赤血球 (SRBC) を投与されたマウスに *Candida albicans* 菌体の生理食塩水抽出物 (Ca-m) を同時に投与し, 脾臓中の抗体産生細胞数測定と一定時間後にマウスの足蹠にSRBCを投与し遅延型過敏症反応を測定した。その結果, Ca-mが抗体産生を増強する作用を持つが同じ抗原の細胞性免疫能を抑制する作用を持つことを明らかにした (図1)。この抗体産生増殖作用は胸腺欠損マウスでは認められず, 正常マウスで認められた (表1)。これはT細胞に依存して抗体産生増強が起こることを示している。さらにハプテンキャリアーを用いた実験結果 (表2) はCa-mによってヘルパーT細胞の機能が増強されていることを示していると考えられる。

抗原を投与された生体では感作T細胞が産生され, それらは同じ抗原の再刺激で活性化され種々なインターロイキン (IL) を産生する²²⁾。

抗原とCa-mを投与されたマウスのT細胞を *in vitro* の系で抗原で再び刺激を行うと, 抗原に特異的にしかも投与量に依存してT細胞の活性化が認められた。対照として用いた免疫抑制剤CsAを投与されたマウスのT細胞ではそのような活性化は認められなかった (図2.B)。また抗原の再刺激を行わないT細胞のみの活性化は抗原投与を受けないマウスのT細胞と同程度で, 抗原刺激を受けたマウスT細胞に比べ有意 ($p < 0.01$) に低い値を示した (図2.B)。感作T細胞群の中で抗原の再刺激なしに活性化が起こるT細胞はIa抗原陽性のT細胞と推測されている。事実, 抗原単独あるいは抗原とCa-mの双方を投与されたマウスのT細胞群から抗Ia抗体と補体を処理しIa⁺陽性細胞を除くと, 抗原のみ投与されたマウスで認められた抗原刺激なしに活性化を示すT細胞は消失した (図3)。すなわち, Ca-mはIa陽性T細胞の

誘導を抑制すると考えられる。Ia抗原を有するT細胞は活性化の初期に出現すると考えられ, その働きについては不明である。Ca-mが遅延型過敏症反応の抑制に関与する可能性を考える重要な知見になるかもしれない。しかし抗体産生と遅延型過敏反応の双方を抑制したCsAはこのIa陽性T細胞の産生の抑制を示さなかった (図2.B) ことから, CsAの抑制機序とは異なるのかもしれない。

感作T細胞は抗原の再刺激で活性化されると同時に種々なインターロイキンを産生する²²⁾。産生するインターロイキンの種類によりヘルパーTh1とヘルパーTh2細胞に分けられる²³⁻²⁵⁾。Th1は主にIL-2を産生し活性化T細胞, NK細胞, キラー細胞 (K細胞) あるいは細胞傷害性T細胞の増殖や活性化を起こし, 移植拒絶反応や抗腫瘍反応などの標的細胞傷害に働き, 細胞性免疫に関与している²³⁻²⁵⁾。Th2はIL-4, 5や6を産生しB細胞を増殖させ, 形質細胞に分化させ, 抗体産生により液性免疫を担っている²⁵⁾。抗原とCa-mの投与は抗原のみにより誘導されるIL-2産生をする感作T細胞誘導を抑制し, B細胞の活性化に関与するILの産生を増強した (図3, 4)。また, 感作T細胞の抗原再刺激によるIL-2とIL-4の産生量を測定するとCa-mはIL-4産生を高めた (図5.B)。すなわちCa-mはTh2細胞の誘導を増強する作用により抗体産生の増強作用を示すものと考えられる。一方Ca-mが細胞性免疫応答を著しく抑制する作用はカンジダ症が細胞性免疫応答に担われていることを考えると, *Candida albicans* がその菌体成分によって自らを排除する機構を抑制する作用を持つことを示しており, 今後Ca-mの細胞性免疫抑制機構を明らかにすることが重要となろう。

Ca-m投与マウスのT細胞群には抗原の再刺激なしに活性化T細胞 (Ia陽性T細胞) の誘導が抑制される成績 (図3) はIa陽性T細胞がおそらくTh1やTh2への前駆細胞の調節に関与していると推測される。活性化された未分化T細胞 (Th0細胞) はIL-12によりTh1細胞へ分化する。そして分化したTh1細胞は自ら産生するIL-2によりクローンを拡大する。またTh0細胞はIL-4によりTh2細胞に分化する。さらに自ら産生するIL-4によりTh2細胞クローンが拡大すると考えられて

いる²⁵⁾。したがってCa-mの投与によって認められるIa陽性T細胞の誘導抑制と、その後続くIL-2産生細胞の減少とIL-4産生細胞の増強の誘導が抗体産生の増強と細胞性免疫の抑制を誘導したことになる。

免疫応答に際してTh1あるいはTh2細胞が誘導されるかは誘導される抗原提示細胞 (antigen presenting cell: APC) の種類とその細胞膜上に発現される副刺激分子が大きな影響を与えられている。Ca-mがどのようなAPCを誘導し、そのAPC上のどのような副刺激分子を提示されるのかについては全く不明である。

カンジダ症におけるCandida albicansの異常増殖はCandida albicans菌体成分の持つ細胞性免疫抑制作用より生体からの免疫応答を回避するためと推測される。

結 論

Candida albicans菌体よりの生理食塩水抽出物質はTh2細胞の誘導を高め、抗体産生を増強した。またIa陽性T細胞とTh1細胞の誘導抑制が細胞性免疫応答を低下させた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜りました奥羽大学歯学部口腔病態解析制御学講座・新田敏正教授に深謝致します。また、数々の御協力を戴いた奥羽大学歯学部口腔病態解析制御学講座の諸先生方に感謝します。

本論文の要旨は第36回奥羽大学歯学会 (平成15年11月8日 郡山) において発表しました。

文 献

- 1) Fridkin, S. K. and Jarvis, W. R. : Epidemiology of nosocomial fungal infections. Clin Microbiol Rev **9** ; 499-511 1996.
- 2) Anaissie, E., Hachem, R., K-Tin-U, C., Stephens L. C. et al. : Experimental hematogenous candidiasis caused by Candida krusei and Candida albicans : Species differences in pathogenicity. Infect Immun **61** ; 1268-1271 1993.
- 3) Smail, E. H., Kolotila, M. P., Ruggeri, R. and Diamond R. D. : Natural inhibitor from Candida albicans blocks release of azurophil and

specific granule contents by chemotactic peptide-stimulated human neutrophils. Infect Immun **57** ; 689-692 1989.

- 4) Romani, L., Mencacci, A., Cenci, E., Puccetti P. et al. : Neutrophils and the adaptive immune response to Candida albicans. Res Immunol **147** ; 512-518 1996.
- 5) Orme, I. M. and Collins, F. M. : Protection against Mycobacterium tuberculosis infection by adoptive immunotherapy. Requirement for T cell-deficient recipients. J Exp Med **158** ; 74-83 1983.
- 6) Kaufmann, S. H. E. and Hahn, H. : Biological functions of T cell lines with specificity for the intracellular bacterium Listeria monocytogenes in vitro and in vivo. J Exp Med **155** ; 1754-1765 1982.
- 7) Rowley, D., Turner, K. J. and Jenkin C. R. : The basis for immunity to mouse typhoid. III. Cell-bound antibody. Aust J Exp Biol Med Sci **42** ; 237-248 1964.
- 8) Miyake, T., Takeya, K., Nomoto, K. and Muraoka, S. : Cellular elements in the resistance to Candida infection in mice. I. Contribution of T lymphocytes and phagocytes at various stages of infection. Microbiol Immunol **21** ; 703-725 1977.
- 9) Rogers, T. J. and Balish, E. : Immunity to Candida albicans. Microbiol Rev **44** ; 660-682 1980.
- 10) Kagaya, K., Shinoda, T. and Fukazawa, Y. : Murine defense mechanism against Candida albicans infection. I. Collaboration of cell-mediated and humoral immunities in protection against systemic C. albicans infection. Microbiol Immunol **25** ; 647-654 1981.
- 11) Jensen, J., Warner, T. and Balish, E. : The role of phagocytic cells in resistance to disseminated candidiasis in granulocytopenic mice. J Infect Dis **170** ; 900-905 1994.
- 12) Cassone, A., Marconi, P., Bistoni, F., Mattia, E. et al. : Immunoadjuvant effects of Candida albicans and its cell wall fractions in a mouse lymphoma model. Cancer Immunol Immunother **10** ; 181-190 1981.
- 13) Cassone, A., Marconi, P. and Bistoni, F. : Cell wall of Candida albicans and host response. CRC Crit Rev Microbiol **15** ; 87-95 1987.
- 14) Vecchiarelli, A., Mazzolla, R., Farinelli, S., Cassone, A. et al. : Immunomodulation by Candida albicans : Crucial role of organ colonization and chronic infection with an attenuated agerminative strain of C. albicans for establishment of anti-infectious protection. J Gene Micro **134** ; 2583-2592 1988.

- 15) Scaringi, L., Marconi, P., Boccanera, M., Tissi, L. *et al.* : Cell wall components of *Candida albicans* as immunomodulators. : Induction of natural killer and macrophage-mediated peritoneal cell cytotoxicity in mice by mannan-protein and glucan fractions. *J Gene Micro* **134** ; 1265-1274 1988.
- 16) Romani, L., Puccetti, P. and Bistoni, F. : Biological role of Th cell subsets in candidiasis. *Chem Immunol* **63** ; 115-137 1996.
- 17) Westphal, O. and Lüderitz, O. : Chemische erforschung von lipopolysacchariden gram-negativer bakterien. *Angew Chem* **66** ; 407-417 1954.
- 18) 平山順邦 : カンジダ症の免疫学的研究 : *Candida albicans*菌体の免疫寛容. 奥羽大歯学誌 **19** ; 460-471 1992.
- 19) Cunningham, A. J. and Szenberg, A. : Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells. *Immunology* **14** ; 599-600 1968.
- 20) Cenci, E., Romani, L., Mencacci, A., Spaccapelo, R. *et al.* : Interleukin-4 and interleukin-10 inhibit nitric oxide-dependent macrophage killing of *Candida albicans*. *Eur J Immunol* **23** ; 1034-1038 1993.
- 21) Tonnetti, L., Spaccapelo, R., Cenci, E., Mencacci, A. *et al.* : Interleukin-4 and -10 exacerbate candidiasis in mice. *Eur J Immunol* **25** ; 1559-1565 1995.
- 22) David, J. R. and David, R. R. : Cellular hypersensitivity and immunity. *Progr Allergy* **16** ; 300-449 1972.
- 23) Mosmann, T. R., Cherwinski, H., Bond, M. W., Giedlin, M. A. *et al.* : Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* **136** ; 2348-2357 1986.
- 24) Street, N. E., Schumacher, J. H., Fong, T. A. T., Bass, H. *et al.* : Heterogeneity of mouse helper T cells. Evidence from bulk cultures and limiting dilution cloning for precursors of Th1 and Th2 cells. *J Immunol* **144** ; 1629-1639 1990.
- 25) Mosmann, T. R. and Coffman, R. L. : Th1 and Th2 cells : Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* **7** ; 145-173 1989.
- 著者への連絡先 : 北村和典, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部口腔病態解析制御学講座
Reprint requests : Kazunori KITAMURA, Department of Oral Medical Science, Ohu University School of Dentistry
31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan