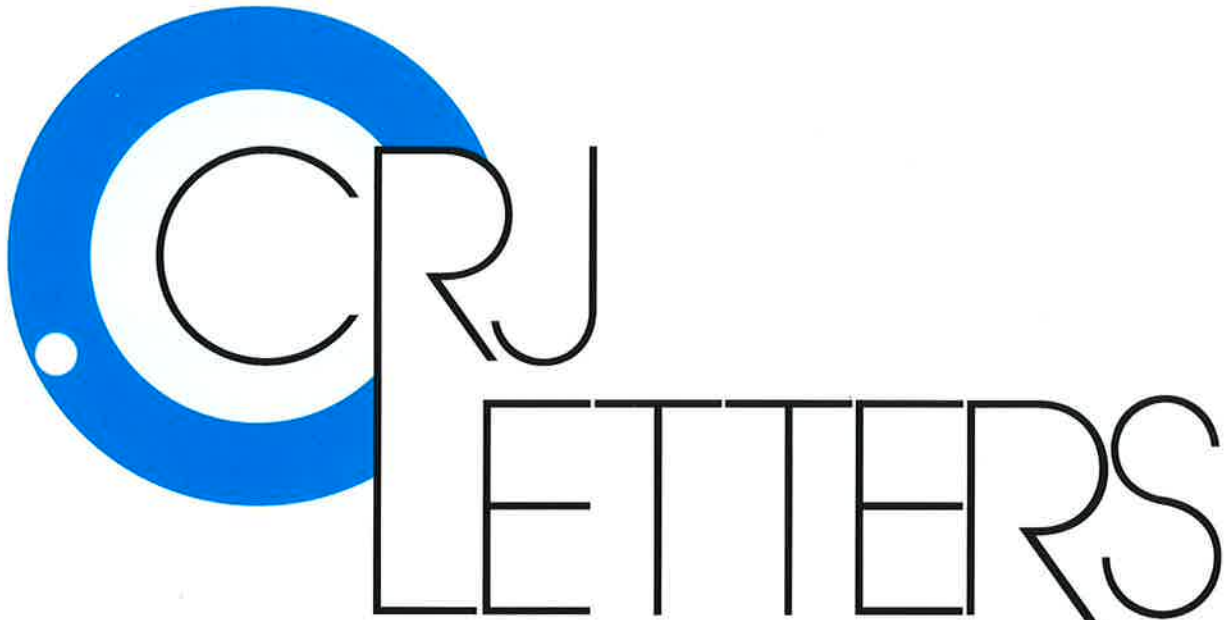


Vol.12 No.1

July 1999



CRJ LETTERS

— 卷頭論文 —

呼吸器の免疫システムと経鼻ワクチン

— C57BL/6NCrjマウスを用いた検討 —

Charles River
Japan Inc.



FROM THE
HAND OF THE
VETERINARIAN
TO RESEARCH

呼吸器の免疫システムと経鼻ワクチン

—C57BL/6NCrjマウスを用いた検討—

大阪大学 微生物病研究所 生体防御研究部門 免疫化学分野 廣井隆親、柳田 学、清野 宏

はじめに

ヒトの体は皮膚（外側）および粘膜（内側）と言う体表面を介して外界に接している。“内なる外”とも言われる薄層の上皮細胞で被われた粘膜面の表面積は皮膚の200倍以上もある。この広大な粘膜面を介して「食べる」「飲む」「吸う」という人間の生命維持に不可欠な生理的行動を通して日常的に様々な異物が体にとりこまれている。その中でも気道は吸入性抗原に絶えず暴露されている環境にあり、各種の防御機構が抗原の侵入に対する生体防御に重要な役割を果たしている。気道における防御機構は物理学的防御機構、化学的防御機構、免疫学的防御機構の3つに大別される。物理学的防御機構では粘液纖毛運動や咳嗽反射による異物の排除、そして化学的防御機構ではラクトフェリン、 α -アンチトリプシン、リゾチームなどの生化学的液性因子による殺菌が主である。これらの物理的・化学的防御作用は抗原非特異的である。免疫学的防御機構には粘膜系と全身系免疫機構があり、粘膜免疫機構ではIgAアイソタイプを中心とした分泌型IgAによる液性免疫などが重要な役割を担っている。抗原特異的分泌型IgA抗体を誘導するために誘導組織と実効組織から成り立っている粘膜免疫循環帰巣経路（CMIS）が形成されている¹⁻⁵⁾。呼吸器粘膜免疫における誘導組織として代表的なものに鼻咽腔関連リンパ組織（Nasopharyngeal Associated Lymphoreticular Tissues;NALT）がある^{6,7)}。ヒトでは扁桃、アデノイドがそれに匹敵すると言われている⁵⁻⁷⁾。さらに呼吸器系には気管支関連リンパ組織（Bronchus Associated Lymphoreticular Tissues;BALT）⁷⁻⁹⁾などがある。NALTやBALTなどの誘導組織において取り込まれた異種抗原は抗原提示細胞によってプロセシされ、ペプチド化抗原をMHCクラスII分子にのせた形で抗原に特異的なTh1・Th2型細胞に提示して活性化する。これらの抗原感作されたCD4⁺T細胞は抗原特異的IgA前駆B α

細胞と共にCMISを介して実効組織に到達し、後にTh2型のサイトカインを供給してB α 細胞の形質細胞への分化を促進してIgAを産出する¹⁻⁵⁾。近年、呼吸器が重要な免疫臓器として注目され、今まで解明が進んできた腸管粘膜免疫機構と共に粘膜ワクチンの可能性を含めてその重要性が益々認識されている。

本稿では最近の我々の知見に基づき、これまで明らかでなかった部分の多い呼吸器系の粘膜免疫機能について解説する。さらにこれらの免疫機構に基づく経鼻ワクチンによる抗原特異的免疫誘導のメカニズムとその可能性についても解説を加えたい。

なお、本研究にはC57BL/6NCrjマウスを使用し、このマウスが呼吸器系の粘膜免疫機能の研究に応用可能かどうか併せて検討した。

著者プロフィール



廣井 隆親 先生

略歴：

- 平成2年 日本大学大学院松戸歯学研究所博士課程 修了
- 平成3年 日本大学松戸歯学部保存修復学教室 講師
- 平成6年 米国アラバマ大学バーミンガム校口腔科学教室（清野宏教授）研究助手
- 平成7年 大阪大学微生物病研究所免疫化学分野 助手
- 所属学会： 日本免疫学会
日本炎症学会



1. 免疫臓器としての呼吸器

一般に気道とは鼻腔、咽頭、気管および気管支を指し、気道は上気道と下気道に分けることができる。上気道として鼻咽腔部と喉頭部までが含まれ、気管より末梢を下気道といい、主気管支を経て肺胞領域に移行する。鼻腔は吸入抗原と最初に接触する部位であり、近年、鼻咽腔関連アレルギー疾患の増加に伴う原因の解明と減感作療法を含めた予防法・治療法の確立に局所での免疫機構の解明が期待される。さらに経鼻免疫による感染症に対する効果的な免疫を誘導するワクチンの開発に向けて呼吸器の粘膜免疫誘導・制御システムが重要になってくる。我々はこれまであまり明らかにされていない上気道の粘膜免疫機構の基礎的解明を行うために、C57BL/6NCrjマウスを用いて鼻腔に存在する粘膜免疫誘導組織であるNALTと実効組織にあたる鼻腔粘膜固有層（NP）より各々リンパ球を分離した後解析し比較検討を行った。

1-1.NALTの構造

抗原特異的な粘膜免疫機能の中心的な役割をはたすIgA抗体産生に関してNALTは抗原の取り込み、プロセッシング、提示そして抗原特異的リンパ球の感作を担当する誘導組織であり、腸管のパイエル板（PP）に相当する組織といわれている⁶⁾。C57BL/6NCrjマウスにおいてNALTは鼻腔内の硬口蓋板の裏面で、鼻中隔をはさんでその両側に存在するやや白みがかった梨形状の組織として肉眼で確認することができる（図1）。NALTの上皮細胞層にはPPと

同様に抗原を取り込む機能を有しているM細胞（Mucosal cell）が存在する。さらに上皮細胞層下には大型リンパ球の集簇を形成しているリンパ濾胞からなる濾胞領域が存在する。通常は胚中心（germinal center:GC）は形成されておらず、経鼻免疫などにより抗原刺激を受けたNALTはリンパ濾胞域が拡大し、GCが形成される。さらにPPと同様に輸入リンパ管がなく、輸出リンパ管のみ存在することも、気道における粘膜免疫誘導組織として機能している可能性を示唆するものである⁶⁾。

図1：マウス頭蓋部における鼻粘膜固有層とNALTの位置

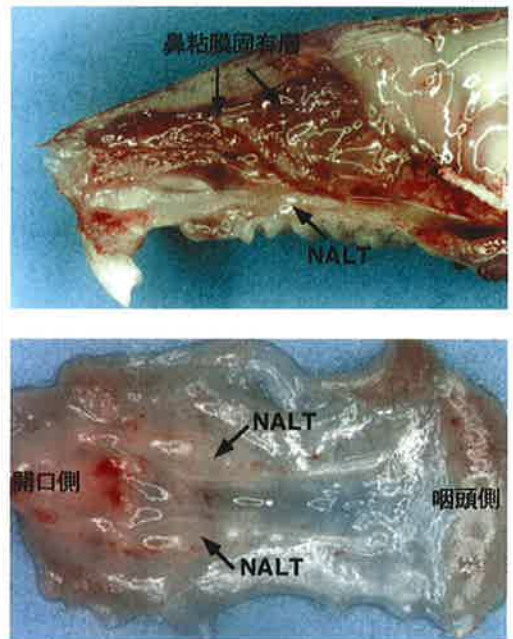


表1：マウス鼻粘膜組織に存在するT細胞

組織	単核球中のCD3 ⁺ T細胞(%)	単核球中のCD3 ⁺ T細胞中における各種サブセットの割合				
		CD4 ⁺ ,CD8 ⁻	CD4 ⁻ ,CD8 ⁺	CD4 ⁺ ,CD8 ⁺	CD4 ⁻ ,CD8 ⁻	
鼻粘膜関連組織	NP	20	49	29	1	19
	NALT	31	75	23	1	2
腸管粘膜関連組織	LP	46	55	33	1	11
	PP	36	72	24	1	3



1-2.NALTと鼻粘膜固有層 (NP) に存在するリンパ球の特徴

鼻腔内の粘膜免疫誘導組織であるNALTと実効組織であるNPより分離してきたリンパ球分画をFACSで解析した(表1)。NALTでは、CD4⁺T細胞が24%、CD8⁺T細胞が8%、B細胞が65%程度存在しており、T細胞に比較してB細胞が比較的優位であった¹⁰⁾。T細胞レセプター(TCR)の発現プロファイルは $\alpha\beta$ TCRを発現する $\alpha\beta$ T細胞がほとんどである。 $\gamma\delta$ T細胞は約1%の頻度で存在している¹⁰⁾。これらの結果をPPのリンパ球分画と比較してみるとT細胞の比率、そしてCD4とCD8の比率も類似していた。これに対してNPより得られたリンパ球分画で同様の解析を行ったところ、存在比率はそれぞれCD4⁺T細胞が10%、CD8⁺T細胞が6%、B細胞が75%であった¹⁰⁾(表1)。これらのNALTおよびNPリンパ球の解析結果は他の品種のマウスでも検討されているが若干の違いはあるものの同様な傾向の報告がされている¹¹⁻¹³⁾。

興味深いことにNALTと異なり、NPには $\gamma\delta$ T細胞が約10~20%と高頻度で存在し、そのほとんどがCD4⁻、CD8⁻であった。NPの $\gamma\delta$ T細胞の存在頻度は腸管における腸管上皮内リンパ球(IEL;40~50%)と比較すると少ないが、唾液腺、特に顎下腺と類似した頻度で存在していることが明らかとなった¹⁴⁾。一般に $\gamma\delta$ T細胞は細菌感染やウイルス感染に対して細胞傷害活性を有し、粘膜面の感染防御に関わっていると考えられている¹⁵⁾。またこの細胞がIgA抗体の産生の誘導・制御に関わっている第2の調節性T細胞群であるという報告もあり¹⁶⁾、その細胞群が高頻度で鼻腔内実効組織に存在する事は興味深い。粘膜免疫実効組織中に多く存在する $\gamma\delta$ T細胞の詳細な機能はまだ不明な点が多く今後十分な検討が必要であろう。

1-3.NALTとNPに存在する抗体産生細胞の比較

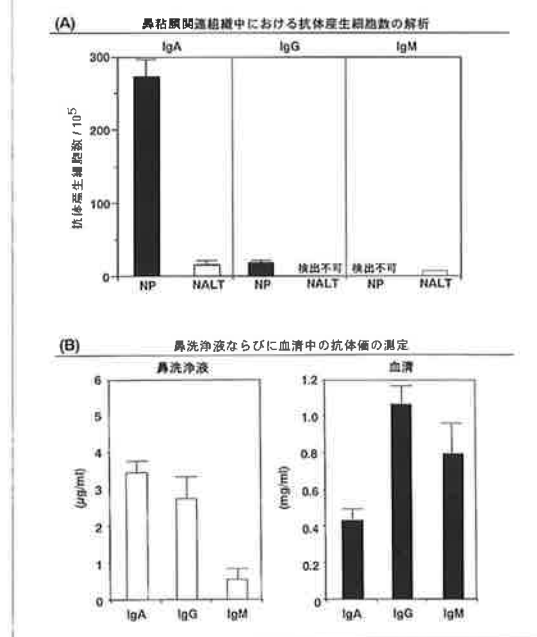
免疫組織染色により正常状態でのNALTならびにNPのIgA、IgGならびにIgMの抗体産生細胞を調べた結果、NALTにはほとんど抗体産生

細胞は認められなかった。一方、NPにはIgA産生細胞が優位に検出された。さらにそれぞれの組織より単核球を分画しELISPOT法にてIgA抗体産生細胞が高頻度存在していることを確認した⁸⁾(図2)。この事実をタンパクレベルでさらに確認するために鼻腔洗浄液中の抗体価をELISA法にて測定した結果、ELISPOT法の結果と同様にIgAの抗体価が優位に上昇していた(図2)。B細胞、抗体レベルでの解析においてもNALTとNP間において粘膜免疫システムの根幹とも言える誘導・実効組織の関係が強く示唆されている。

1-4.NALTとNPにおける特徴的なサイトカイン産生CD4⁺T細胞サブセットの存在

CD4⁺ヘルパーT細胞は産生するサイトカインのパターンによりTh1型(IFN- γ 、IL-2、TNF- β)、Th2型(IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13)および両者の混合パターンを示すTh0型に分類されており¹⁷⁾、特にIL-5、IL-6、IL-10はIgA前駆B細胞を最終分化させるIgA賦活型サイトカインとして知られている。つまり、Th2型サイトカインがIgA産生細胞の

図2: 鼻粘膜関連組織中における抗体産生細胞数の解析





Thサブセット	サイトカイン-mRNA陽性細胞数	
	NALT	NP
Th0型	6	1
Th1型	0	5
Th2型	2	15
サイトカイン-mRNA陽性細胞数	42	29
総和	50	50

表2: NALTとNPにおけるTh0型、Th1型またはTh2型CD4⁺T細胞の出現頻度の検討

誘導には必要であることを意味する。NPにおける抗体産生細胞はIgAを優位に産生することから(図2)、Th2型細胞が実効組織でIgA前駆B細胞のプラズマ細胞誘導への役割を担っている可能性が考えられた。そこで我々は鼻腔における誘導組織(NALT)と実効組織(NP)のCD4⁺T細胞のサイトカイン産生機能を細胞レベル、転写レベルで明らかにするために、フローサイトメトリーを用いてCD4⁺T細胞を分離した。単一細胞におけるTh1型サイトカイン(IFN- γ)とTh2型サイトカイン(IL-4とIL-6)の発現を解析するためにsingle cell RT-PCR法を駆使して解析をした(表2)^{10,18)}。この方法の長所は、一般に行われているRT-PCR法より分離精製した細胞数が少なく、そして細胞1個単位で検討することができるためTh0型を含めた3種のTh型サブセットを正確に解析する事ができる¹⁰⁾。

解析の結果、C57BL/6NCrjマウスにおけるNALTにはIFN- γ 、IL-4やIL-6などのTh1型・Th2型サイトカイン両方を産生するTh0型のプロファイルを持つCD4⁺T細胞が多数存在している。それに対して、NPより分離したCD4⁺T細胞はTh0型は殆どなくIL-4やIL-6を産生するTh2型そして引き続いてTh1型CD4⁺T細胞が多数存在していることが明らかとなった¹⁰⁾(表2)。これらの結果より、誘導組織であるNALTには経鼻投与された抗体により感作されTh1型・Th2型ヘルパーT細胞になりうるTh0

型細胞が存在している。そして経鼻ワクチンなどの抗原により感作されたNALT Th0型細胞はTh1型もしくはTh2型CD4⁺T細胞となり実効組織に移動して細胞性免疫や抗体産生細胞の機能を活性化していると考えられる。

鼻腔領域に近接している粘膜免疫実効組織の一つである口腔内の唾液腺についてもヘルパーT細胞におけるサイトカイン産生パターンを検討した。興味あることに、その結果はNPの結果に類似しており、IgA産生に関連する粘膜免疫実効組織でのヘルパーT細胞のサイトカイン産生は共通してTh2型にシフトしていることが認められた^{19,20)}。

次にそれぞれの組織から分離したCD4⁺Tリンパ球が抗体産生を誘導する機能を有しているか検討した。NALTおよびNPより分離したT細胞とIgA前駆B細胞が高頻度で存在するパイエル板より分離したB細胞との共培養系を使用して抗体産生細胞の出現数を検討した。その結果、NPより分離したCD4⁺T細胞は抗体産生誘導能が認められたが、NALT由来のT細胞群ではその効果が認められなかった¹⁰⁾。実効組織の一部である唾液腺より分離したCD4⁺T細胞についてもNP由来CD4⁺T細胞と同様にIgA誘導に関して強いヘルパー機能が認められた^{19,20)}。同様な培養実験系を用いてNALTのCD4⁺T細胞事前に活性化した場合には明らかに抗体産生を誘導することができた¹⁰⁾。すなわち、NALTに存在するCD4⁺Th0型細胞はTh1型、Th2型いずれのタイプにも分化することが可能であり、種々の抗原刺激を受けることによりIgA産生を誘導・制御する機能を有するCD4⁺T細胞に成りうる能力を持ち合わせることが示唆された。

2. 経鼻ワクチン開発へ向けて

鼻腔を中心とした呼吸器系は粘膜免疫臓器として重要な役割を果たしている事が近年わかってきた。NALTに的確に抗原を投与できれば粘膜免疫系が活性化され、抗原に特異的な免疫応答を粘膜系と全身系両免疫機構に誘導する事が可能になる。つまり“吸うワクチン”と言われる経鼻ワクチンの開発が期待される。

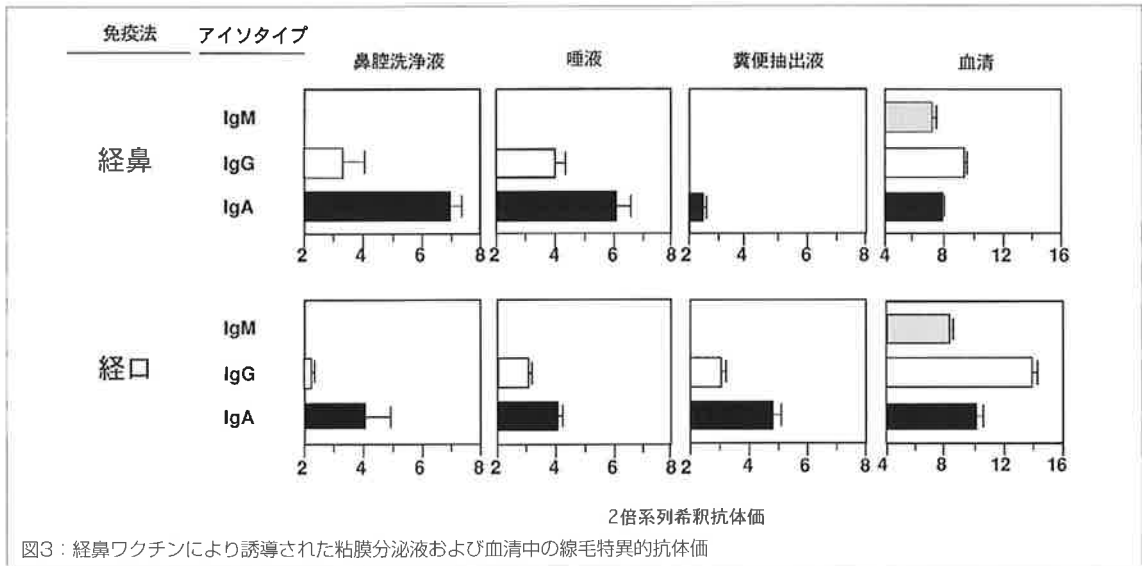


図3：経鼻ワクチンにより誘導された粘膜分泌液および血清中の線毛特異的抗体価

2-1. 経鼻免疫による抗体産生の誘導

経鼻ワクチンの開発ということを考えてこれまで紹介してきた鼻腔およびその周辺の粘膜免疫機構による抗原特異的免疫応答の誘導・制御システムをより詳細に検討する必要がある。そこでワクチン抗原として歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) の線毛蛋白を利用した経鼻ワクチンの可能性についての最近の知見を紹介する。本研究では線毛抗原と粘膜アジュバンドとして良く知られている *Vibrio cholerae* が産生する菌体外毒素であるコレラトキシン (CT) を併用して C57BL/6NCrj マウスに経鼻免疫し、惹起されてくる抗原特異的免疫応答について誘導・実効組織の観点から解析した。その結果、経鼻免疫法は鼻腔、口腔領域における抗原特異的分泌型 IgA 免疫応答の誘導に効果的な免疫経路であることが明らかになった (図3)²¹⁾。さらに鼻粘膜のみならず血清中の抗原特異的な IgG や IgA 抗体価が優位に上昇し全身系の免疫応答も誘導された (図3)²¹⁾。これらの結果は鼻粘膜局所を含めた粘膜系と全身系免疫機構への IgA、IgG 抗体の誘導は経鼻免疫法が優れている事を示唆している。

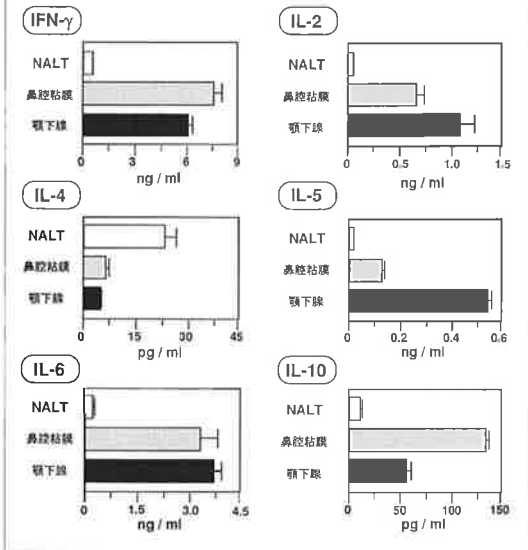
2-2. 各組織における抗原特異的 Th1 型・Th2 型 CD4 陽性 T 細胞のプロファイル

産生されるサイトカインのプロファイルから Th1 型は細胞性免疫に Th2 型は B 細胞を中心とした体液性免疫に重要な役割を果たしている。これら産生されるサイトカインの相互作用は Th1 型細胞が産生する IL-2 が Th2 型細胞にとって重要な増殖因子であり、逆に Th2 型細胞が産生する IL-4 は Th1 型細胞に対して重要な成長因子であることが知られている。さらに Th1 型細胞が産生する IFN- γ は Th2 型細胞に抑制的に働き、逆に Th2 型細胞が産生する IL-10 は Th1 型細胞に対して抑制的に作用する。つまり、Th1 型と Th2 型細胞は相互に各種サイトカインを介して抑制、賦活機構に関するコミュニケーションができる関係になっている。マウスの場合には粘膜面で重要な IgA 産生細胞の誘導にあたっては、Th2 型細胞によって分泌される IL-5、IL-6 が B α 細胞に働いて形質細胞に分化することが知られている¹⁻³⁾。

そこで経鼻免疫によって誘導された抗原特異的 Th1 型・Th2 型免疫応答を産生するサイトカインのプロファイルを中心に各々の粘膜免疫誘導組織と実効組織にて調べた。実験方法としては培養フラスコ中に精製抗原タンパク (線毛) とマウス脾臓より調整した抗原提示細胞と経鼻免疫をした C57BL/6NCrj マウスの鼻粘膜免疫誘導組織 (NALT) と実効組織 (NP と顎下腺) から分離した CD4⁺T 細胞を 6 日間混合



図4：経鼻ワクチンによる抗原特異的Th1型・Th2型サイトカイン産生CD4⁺T細胞の誘導



培養し培養上清中に産生されるTh1型とTh2型サイトカインを測定した。その結果、NPと顎下腺に誘導された、線毛特異的CD4⁺T細胞はTh1型であるIFN- γ とTh2型であるIL-5、IL-6とIL-10優位に産生した。その反面、誘導組織であるNALTではTh1型サイトカインの産生は認められず、さらに解析したTh2型サイトカインの中ではIL-4のみであった。これらの結果から抗原特異的CD4⁺T細胞が産生するTh1型とTh2型サイトカインの産生プロファイルがIgA誘導組織であるNALTとNP、顎下腺に代表される実効組織で異なることが明らかとなった(図4)²¹⁾。粘膜面実効組織においては、抗原特異的IgAを産生するにあたり効果的なTh2型T細胞が有意に誘導されていることが認められた。さらに注目すべき点はNALTではB細胞増殖因子でありアイソタイプスイッチングに関与するIL-4を選択的に産生していた。このIL-4はTGF- β によるIgAアイソタイプスイッチングの過程を補助するだけでなくIgE抗体へのクラススイッチに関与している¹⁻³⁾。つまりNALTが鼻粘膜アレルギーに重要な役割を果たしていることも考えられる。さらにIgAとIgEの免疫誘導のバランスをとる組織としてのNALTの機能が示唆され、今後興味深い研究が

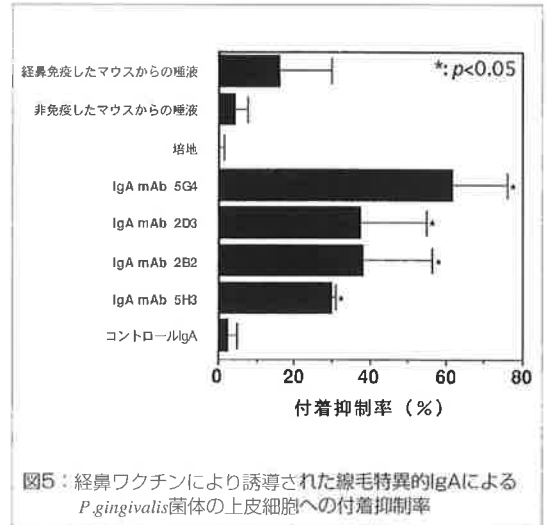


図5：経鼻ワクチンにより誘導された線毛特異的IgAによる*P. gingivalis*菌体の上皮細胞への付着抑制率

展開されていくであろう(図4)²¹⁾。

2-3. 経鼻ワクチンで誘導された線毛特異的IgA抗体には菌体の上皮細胞への付着抑制効果がある

*P. gingivalis*の線毛タンパクの病原因子としての重要性については野生型の*P. gingivalis*と線毛の欠損している変異株とで歯肉上皮細胞への付着・侵入率を検討した結果からあきらかである。つまり野生型と比較して変異株では上皮への侵入がまったく認められなかったことから、線毛タンパクは口腔上皮細胞への付着促進因子として考えられている²²⁾。そこで誘導された抗体が実際に付着抑制機能を示するかを*in vitro*の上皮細胞への細菌付着実験を行い評価した。経鼻ワクチンを施したC57BL/6NCrjマウスより唾液を採取し細菌付着実験を行い付着抑制効果を認めたが、その効果はレベルの低いものであった。これは唾液中に誘導された線毛特異的IgA抗体の抗体価が*in vitro*の付着実験スケールには少なすぎることが考えられた。また唾液中には種々の唾液タンパク(例えば、ムチンやプロリントタンパク質など)やレクチンなどの細菌付着促進因子も多く含まれていることより²³⁾、抗原特異的IgA抗体による阻止効果を直接的に証明することは難しい。そこで唾液中に抗原誘導されたマウス顎下腺よりB細胞を分離精製し細胞融合法にて線毛タンパクに対するモノクローナル抗体を作製し



実験に供した。得られた線毛特異的IgA抗体クローンは*P.gingivalis*菌体のヒト上皮細胞株に対する付着抑制効果が認められた(図5)²¹⁾。しかしながらこれら抗体の付着抑制は完全なものではなく、おそらく他の細菌表面分子も細菌付着に関与していることが示唆された。例えばヘマグルチンといった菌体細胞表面構成成分も上皮細胞への菌体付着に重要な役割を果たしていることから伺える²⁴⁾。

2-4. 経鼻免疫により誘導された線毛特異的IgA抗体は菌体付着により誘導される炎症性サイトカイン・ケモカインの産生を抑制する

経鼻免疫により誘導された線毛特異的IgA抗体による*P.gingivalis*の上皮細胞への付着抑制を裏付ける目的で細菌付着により上皮細胞から産生される炎症性サイトカイン・ケモカインであるIL-6、IL-8、MCP-1の産生量の変化についても検討した。これらの炎症性サイトカイン・ケモカインの産生を阻止することで、細菌付着・侵入によって引き起こされる炎症反応の惹起を防ぐという意味で線毛特異的IgA抗体のとりうる役割を検討することは重要である。炎症性サイトカイン・ケモカインは細菌の暴露により上皮細胞より産生が増強される²⁵⁾。本研究でもヒト上皮細胞株を*P.gingivalis*と共培養することによりIL-6、IL-8、MCP-1の産生増加が認められた(図6)²¹⁾。しかしながら、線毛特異的モノクローナルIgA抗体を同培養系に添加することにより炎症性サイトカイン産生が抑制された(図6)。これらの知見は経鼻ワクチンにより上皮細胞への細菌付着

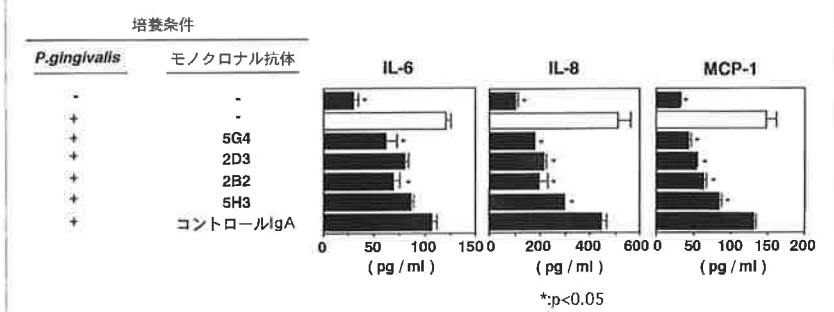
抑制効果を有する抗原特異的IgA抗体を誘導するという重要な情報を提供している。

まとめ

呼吸器粘膜免疫システムにおいて、NALTにはTh1型、Th2型いずれのタイプへも分化するTh0型の細胞、すなわちナイーブで未感作状態のCD4⁺T細胞が主に存在している。これらのTh0型細胞は吸入抗原により感作・活性化されTh1型・Th2型に分化していくのであろう。それを反映するように鼻腔粘膜固有層組織(NP)にはTh2型のCD4⁺T細胞が高頻度に存在し、B細胞の分化とIgA産生をコントロールしている。免疫学的にはNPは消化管の実効組織である粘膜固有層にほぼ相当する機能を持つことが明らかとなった。つまりNALT内で感作されたTh1型・Th2型CD4⁺T細胞は同組織内で抗原刺激を受けたIgA前駆B細胞(B α 細胞)と共にCMISによってNPを含めた遠隔の実効組織に到達して抗原特異的IgA免疫応答を成立させる。この概念は吸うワクチンつまり経鼻ワクチンへの応用につながっていく。歯周病原菌の一つと考えられている*P.gingivalis*線毛抗原と粘膜アジュバントのCTを併用した経鼻ワクチンにより、細菌付着ならびに炎症性サイトカイン産生を抑制する効果的な粘膜免疫応答の誘導が認められた。以上述べた如くC57BL/6NCrjマウスを用いた今回の結果から、このマウスが呼吸器系粘膜免疫機能の研究に有用なものであることが確認された。今後はヒトに対する経鼻ワクチン応用をふまえて臨床研究もさらに進行することであろう。21世紀には安全かつ

効果的な経鼻ワクチンが多くの子供の予防ならびに治療に利用されることを期待する。

図6：経鼻ワクチンにより誘導された線毛特異的IgAによる*P.gingivalis*付着誘導型炎症性サイトカインとケモカインの産生阻止効果





文献

- 1) Mestecky, J. and J. R. McGhee, *Adv. Immunol.* 40:153-243,1987.
- 2) McGhee J. R., and H. Kiyono, *Adv. Exp. Med. Biol.* 327:3-12,1993.
- 3) 廣井隆親、高橋一郎、清野宏 免疫薬理 11:17-25,1993.
- 4) 清野宏、廣井隆親 日鼻 32:363368,1994.
- 5) Brandtzaeg, P. and T. S. Halstensen., *Adv. Otorhinolaryngol.* 47:64-75,1992.
- 6) Kuper, C. F., P. J. Koornstra, D. M. H. Hameleers, et al., *Immunol. Today* 13:219-224,1992.
- 7) 川内秀之 生体防御の最前線—粘膜免疫機構をめぐって、清野宏編集、医歯薬出版、東京、p19-23、1996.
- 8) Bienenstock, J., N. Johnston, and D. Y. Perey, *Lab. Invest.* 28:686-692,1973.
- 9) 佐藤篤彦、豊嶋幹生：BALTの免疫学的意義、気道の粘膜免疫、p41-65、佐藤篤彦編集、金芳堂、京都、1997.
- 10) Hiroi, T., K. Iwatani, H. Iijima, et al., *Eur. J. Immunol.* 28:3346-3353,1998.
- 11) Wu, H. Y., E. B. Nikolova, K. B. Beagly, et al., *Immunology.* 88:493-500,1996.
- 12) Asanuma, H., Y. Inaba, C. Aizawa, et al., *J. Immunol. Methods* 187:41-51,1995.
- 13) Asanuma, H., A. H. Thompson, T. Iwasaki, et al., *J. Immunol. Methods* 202:123-131,1997.
- 14) Mega, J., J. R. McGhee, and H. Kiyono, *J. Immunol.* 148:2030-2039,1992.
- 15) Haas, W., P. Pereir, and S. Tonegawa, *Ann. Rev. Immunol.* 11:637-685,1993.
- 16) Fujihashi, K., J. R. McGhee, M. N. Kweon, et al., *J. Exp. Med.* 183:1929-1935,1996.
- 17) Mosmann, T. R. and R. L. Coffman., *Ann. Rev. Immunol.* 7:145-173,1989.
- 18) Toellner, K. M., D. S. Toellner, U. Seitzer, et al., *J. Immunol. Methods* 91:71-75,1996.
- 19) Hiroi, T., K. Fujihashi, J. R. McGhee, et al., *Eur. J. Immunol.* 24:2653-2658,1994.
- 20) Hiroi, T., K. Fujihashi, J. R. McGhee, et al., *Eur. J. Immunol.* 25:2743-2751,1995.
- 21) Yanagita, M., T. Hiroi, N. Kitagaki, et al., *J. Immunol.* 162:3559-3565,1999.
- 22) Njoroge, T., R. J. Genco, H. T. Sojar, et al., *Infect. Immun.*, 65:1980-1984,1997.
- 23) Cook, G. S., J. W. Costerton, and R. J. Lamont., *J. Periodontal Res.* 33:323-327, 1998
- 24) Cutler, C. W., J. R. Kalmar, and C. A. Genco, *Trends in Microbiol.* 3:45-51,1995.
- 25) Jung, H. C., L. Eckmann, S. K. Yang, et al., *J. Clin. Invest.* 95:55-65,1995



日本チャールス・リバーからのお知らせ

新発売

新規化合物、既存化合物、およびその代謝物の 毒性推定・評価に画期的 Prediction 機能

毒性評価推定コンピューターソフト (Multicase, Inc./USA製)

MULTICASE(M-CASE)TM

マルタイケースTM

日本チャールス・リバー株式会社

他の製品と比べた優秀性は、MULTICASEがFDAの評価を受けた結果、FDAと研究契約 (CRADA) を締結し原則非公開のFDAのデータベースを使用できることに現れています。また、その評価の結果はReportとして発行されています。

ただいまFDAのMULTICASETM評価レポートを進呈しています。

—— 新しく改良され、最高に能力を引き出されたシステム、FDA ——

OTR/MCASE(MULTICASE) (AF5-8)はcarcinogensとnoncarcinogensに対し優秀な予測値 (それぞれ97%と98%) を示し、予測を誤ったのは1例 (2%) のみであった。—— MULTICASEでのこの画期的な改良は以下のような多くの点での改良によるものである。具体的には；

- (A) コントロールデータベースのサイズの強化
- (B) MULTICASEのシステム中の評価基準の最適化

(FDA Reportより抜粋)

注) 実際に使用できるデータベースはCarcinogenの他にも多数そろっています。

お問い合わせは
右記まで

日本チャールス・リバー (株) 第2営業部
TEL.045-474-9336 FAX.045-474-9341
e-mail: crj-sd@yokohama.ne.jp



《近々発売》

Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGS

— 通称：Wistar-Hannover ラット —

弊社ではワールドワイドにお使い頂ける上記のラットを発売開始致します。

欧州にて古くから愛用されてきましたこのラットは、チャールス・リバーグループ間の遺伝的分岐を最小限におさえるIGSシステムによる生産方式をとっております。

この度、国際的ハーモナイゼーションの動きに対応すべくチャールス・リバーグループ全社で販売を行うことになりました。

動物の特徴

- 従来のWistarと比較して小型である
- 長命である(24ヶ月の生存率例:75%以上)
- 産仔数が少ない(平均9~11頭/腹)

Crj:WI(Glx/BRL/Han)IGSの特徴

- チャールス・リバーグループ共通のReference Colonyから親種を導入
- 遺伝的に系統図が明確で、IGSシステムで管理
- 長年ご評価頂いているSPF/VAF管理技術で飼育
- 生産/品質管理はISO-9002取得のシステムで運営
- チャールス・リバーグループ共通組成の粗蛋白18%組成の飼料を使用

価格・納期などは、下記までお問い合わせください。

東京営業所	TEL:045-474-9340	FAX:045-474-9341
大阪営業所	TEL:06-6543-3901	FAX:06-6543-3908
筑波営業所	TEL:0298-54-9925	FAX:0298-54-9935

CRJ LETTER Vol.12 No.1

この小冊子に関するご意見、ご要望を下記までお寄せください。

発行日：平成11年7月

発行所：日本チャールス・リバー株式会社

〒222-0033 横浜市港北区新横浜2-3-8 東伸24新横浜ビルB-4階

電話045(474)9340

企画・編集：日本チャールス・リバー株式会社

制作：株式会社 オービックO.A



日本チャールス・リバー株式会社

・弊社の英文社名は Charles River Japan, Inc. です

動物についてのお問合せ、ご注文先

国内飼育動物 ☎045(474)9350 ファックス045(474)9351
輸入動物 ☎045(474)9333 ファックス045(474)9341