

原 著

ブドウ球菌外毒素 toxic shock syndrome toxin-1によって誘導された  
マウスリンパ芽球からのインターロイキン2産生

東京女子医科大学 微生物学教室 (主任: 内山竹彦教授)

ヤン 小 傑

(受付 平成元年2月10日)

**Accelerated Interleukin 2 Production by Murine Splenic Lymphoblasts  
Induced with a Staphylococcal Exotoxin,  
Toxic Shock Syndrome Toxin-1****Xiao-Jie YAN**Department of Microbiology (Director: Prof. Takehiko UCHIYAMA)  
Tokyo Women's Medical College

Toxic shock syndrome (TSS) toxin-1 (TSST-1), an exotoxin produced by certain strains of *Staphylococcus aureus*, has been implicated in the pathogenesis of TSS and is known as a potent polyclonal T cell activator. In this paper, we tried to characterize lymphoblasts obtained from the primary cultures of spleen cells from C57BL/6 mice stimulated by TSST-1, which showed accelerated interleukin-2 (IL-2) production upon TSST-1 restimulation.

Proliferative responses and IL-2 production, which reached the peaks around 72 h of cultivation, were induced upon TSST-1 stimulation in whole spleen cells and purified splenic T cells in the presence of irradiated peritoneal cells, but not in T-depleted spleen cells. The results indicate that TSST-1 activates T cells. Lymphocytes recovered from the primary cultures of spleen cells stimulated with 1 ng/ml of TSST-1 for 3 days produced large amounts of IL-2, when restimulated with 10 ng/ml or TSST-1 for 3—12 h. These lymphocytes showing the accelerated IL-2 production were fractionated into the large lymphoblast fraction (1.060—1.070 in buoyant density) by Percoll density centrifugation.

Removal of T cells from spleen cells to be primary-stimulated by TSST-1 abrogated completely the accelerated IL-2 production in the recovered lymphocytes, indicating that generation of TSST-1-induced lymphoblasts is dependent on the presence of T cells. However, the TSST-1-induced lymphoblasts which were depleted of T cells after the recovery from the primary culture showed production of decreased but substantial amounts of IL-2 upon TSST-1-restimulation. The results indicate that the TSST-1 induced lymphoblasts are consisted of two cell populations with T cell nature and non-T cell nature.

## はじめに

Toxic shock syndrome (TSS) は, Toddら<sup>1)</sup>によって最初に見出された急性・全身性症状を呈するブドウ球菌感染症であり, 発熱, 血圧低下, 嘔吐や下痢などの消化器症状, 皮膚発疹等多彩な臨床所見や腎臓, 肝臓, 血液凝固系の異常を特徴

とする<sup>1)~3)</sup>. 現在, この疾患は黄色ブドウ球菌が産生する TSS toxin-I (TSST-1) という新しく見出された外毒素によって惹起されると考えられている<sup>4)5)</sup>. TSST-1は最近その構造遺伝子がクローニングされ, アミノ酸194個からなる分子量22,049の単純蛋白質である<sup>6)</sup>. この外毒素は免疫系と細網

内皮系組織に多彩な作用を示し、種々の動物の T 細胞にマイトージェンとして作用して細胞分裂を促し<sup>7-10)</sup>、インターロイキン 2 (IL-2)<sup>7,9-11)</sup>、マクロファージ活性化因子<sup>12)</sup>、 $\gamma$ -インターフェロン ( $\gamma$ -IFN)、腫瘍壊死因子  $\beta$  (tumor necrosis factor  $\beta$ , TNF- $\beta$ )<sup>13)</sup>等のリンフォカインの産生を誘導する。さらに、TSST-1はマクロファージに作用してインターロイキン 1 (IL-1)<sup>14)</sup>、TNF- $\alpha$ <sup>13)</sup>等モノカインの産生を誘導することも報告されている。実験動物を用いた TSST-1の生物作用の解析では、ウサギのエンドトキシンショックを増強する作用や発熱作用<sup>15)</sup>が報告されている。免疫応答への影響について、著者らは TSST-1による抗体産生を抑制する抑制性 T 細胞の誘導<sup>16)</sup>や T 細胞を介して B 細胞の活性化の誘導 (厳ら、論文作成中)を見出している。

我々は TSST-1による T 細胞活性化作用について解析を続けている。今回の研究では、我々は TSST-1の一次刺激により誘導されたリンパ芽球は TSST-1の二次刺激に反応して短時間内に大量の IL-2を産生すること、さらにこのリンパ芽球中には T 細胞系と非 T 細胞系の二種の細胞群が含まれていることを見出した。

#### 材料と方法

##### 1. 動物

C57BL/6マウス (8~16週齢, 雄および雌)を自家繁殖して用いた。

##### 2. TSST-1

TSST-1は既報<sup>17)</sup>のごとく黄色ブドウ球菌 FRI1169株の培養上清からイオン交換クロマトグラフィー、クロマトフォーカシングおよびゲル濾過の 3 種の方法を組み合わせるにより精製して得た。

##### 3. 細胞分画および細胞培養液

C57BL/6マウスから脾臓を摘出し、脾細胞を単離し、0.83%トリス塩化アンモニウム溶液を用いて赤血球を溶血させたのち、冷 Hanks 液で 3 回洗浄した。

T 細胞の調製：はじめに脾細胞をナイロンウールカラム ( $3 \times 10^8$ /ナイロンウール 3g)に通過させる。得た非付着性 T 細胞分画の IgM 型モノ

クロナール抗 I-A<sup>b</sup>抗体 (HB35ハイブリドーマ, 慶応大学微生物学教室多田隈博士より分与)と補体 (幼若モルモット血清)処理を 2 回繰り返して Ia 陽性細胞を除き、精製 T 細胞を得た。

T 除去脾細胞の調製：脾細胞  $2 \times 10^7$ /ml を既報<sup>18)</sup>のごとくモノクロナール抗  $\theta$  抗体 (HO13ハイブリドーマ腹水, 慶応大学微生物学教室石川博士より分与)と補体で処理することによって得た。

腹腔細胞：無処置 C57BL/6マウスの腹腔に Hanks 液を用いて腹腔細胞 (peritoneal cells, PC)を採取した。全脾細胞や抗体処理細胞に混在する死細胞は Percoll (比重 1.060)を用いて 2,600 回転, 20分遠心することによって除いた。

細胞培養液：細胞培養液には胎児牛血清 (fetal calf serum, FCS),  $5 \times 10^{-8}$ M 2-メルカプトエタノール, ペニシリン (万有製薬, 東京) 100U/ml, ストレプトマイシン (明治製薬, 東京) 100 $\mu$ g/ml を含有する RPMI1640 (日水製薬, 東京)を用いた。細胞増殖反応測定には 5%FCS を添加し, 他の培養液に 10%FCS を添加した。

##### 4. TSST-1に対するリンパ球の増殖反応の測定

種々の分画脾細胞を 96穴マイクロプレート (Corning 社, New York)を用いて (3穴/実験群), 37 $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub>条件下で種々の濃度の TSST-1で刺激した。リンパ球の増殖反応は培養終了 6 時間前に添加された <sup>3</sup>H-thymidine (New England Nuclear, USA) (1 $\mu$ Ci/穴)の細胞内への取り込みを液体シンチレーションカウンター (アロカ社, 東京)を用いて測定することにより得られた。成績は各 3 穴の count per minute (cpm) の平均値と標準誤差として示した。

##### 5. TSST-1一次刺激リンパ球の調整とリンパ芽球の分離

TSST-1一次刺激リンパ球はマウス脾細胞  $1.5 \times 10^6$ /ml を TSST-1で一定時間刺激後, 非付着性細胞を回収した。リンパ芽球は TSST-1刺激細胞を Percoll (比重 1.060と 1.070)上に重層し, 2,600回転, 20分遠心分離することにより, 大型, 低比重リンパ球 (比重 1.060~1.070)と小型, 高比重リンパ球 (比重 1.070以上)に分画した。

## 6. IL-2活性の測定

マウス脾細胞を種々の濃度の TSST-1 で一定時間刺激し、24穴培養プレート(Corning社)を用いて培養した。培養上清の IL-2 活性は、既報<sup>10)</sup>のごとく、IL-2 依存性 CTLL-2 細胞を IL-2 反応細胞として測定した。CTLL-2 細胞 ( $3 \times 10^4$ /ml) を 96 穴マイクロプレートに  $100 \mu\text{l}$ /穴 (1 実験群につき 3 穴) ずつ分注し、2 倍系列で希釈した実験培養上清や既知単位のリコンビナント IL-2 (rIL-2) を  $100 \mu\text{l}$  ずつ添加して、24 時間培養した。IL-2 の活性は培養終了時 4 時間の細胞内への  $^3\text{H}$ -thymidine ( $1 \mu\text{Ci}$ /穴添加) 取り込みを測定し、rIL-2 を用いて得られた CTLL-2 細胞増殖反応を標準曲線として参照し、units/ml として示された。

### 結 果

#### 1. TSST-1 に対するマウス脾細胞の増殖反応

C57BL/6 マウスから得た全脾細胞、精製 T 細胞、T 除去脾細胞を  $0.001 \text{ ng/ml}$  から  $100 \text{ ng/ml}$  の種々の濃度の TSST-1 で刺激し、72 時間後の細胞増殖反応を測定した。精製 T 細胞は  $3,000 \text{ rads}$  の X 線を照射された PC (X-PC) の存在下で培養された。Fig. 1 で見られるように、全脾細胞と精製 T 細胞の増殖反応は TSST-1 の刺激量の増加に従って高くなり、全脾細胞は精製 T 細胞に比較して、より少量の TSST-1 に対して反応する傾向が得られた。一方、T 除去脾細胞はいずれの TSST-1 投与量に対しても増殖反応を示さなかった。つぎに、増殖反応の経時変化を調べるために、全脾細胞、X-PC の存在下での精製 T 細胞、それに T 除去脾細胞を  $10 \text{ ng/ml}$  の TSST-1 を用いて 24 時間から 120 時間刺激した。Fig. 2 に見られるように、全脾細胞と精製 T 細胞の増殖反応は 72 時間まで持続的に増大し、その後減少した。全脾細胞は精製 T 細胞よりも反応の程度は高かった。T 除去脾細胞は全経過中増殖反応を示さなかった。

#### 2. TSST-1 によるマウス脾細胞からの IL-2 産生の誘導

マウス全脾細胞、X-PC の存在下での精製 T 細胞、T 除去脾細胞を  $0.001 \text{ ng/ml}$  から  $100 \text{ ng/ml}$  の種々の濃度の TSST-1 で刺激し、72 時間後の培養上清中の IL-2 活性を調べた。Fig. 3 で示すように

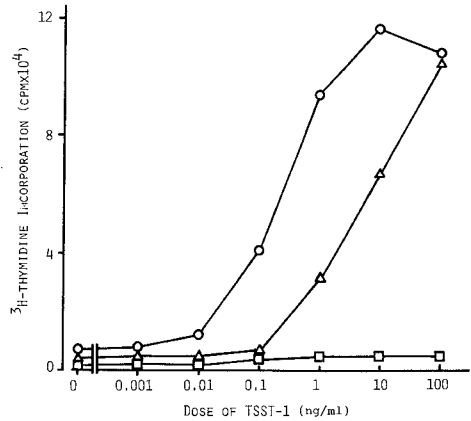


Fig. 1 Proliferative responses induced by TSST-1 in splenic lymphocytes

Splenic lymphocytes ( $5 \times 10^5$ /well) were stimulated with graded doses of TSST-1 ranging from  $0.001$  to  $100 \text{ ng/ml}$  for 72h.  $\circ$ ; whole spleen cells,  $\triangle$ ; T cells + X-PC ( $5 \times 10^4$ /well),  $\square$ ; T-depleted spleen cells.

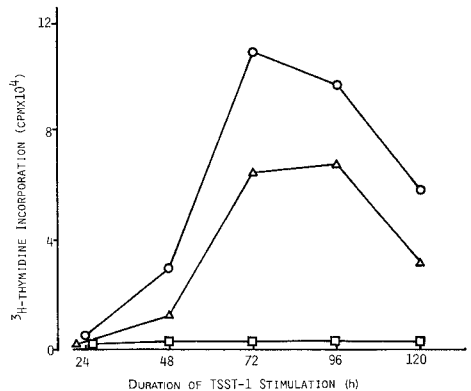
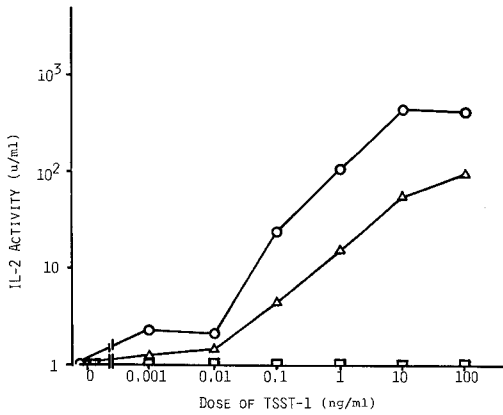


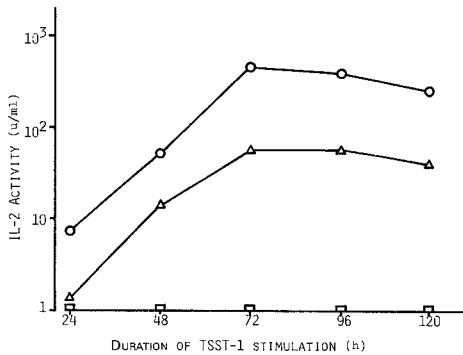
Fig. 2 Kinetics of proliferative responses induced by TSST-1 in splenic lymphocytes

Splenic lymphocytes ( $5 \times 10^5$ /well) were stimulated with  $10 \text{ ng/ml}$  of TSST-1 for various period.  $\circ$ ; whole spleen cells,  $\triangle$ ; T cells + X-PC ( $5 \times 10^4$ /ml),  $\square$ ; T-depleted spleen cells.

全脾細胞と精製 T 細胞の培養上清中には  $0.01 \sim 0.1 \text{ ng/ml}$  の TSST-1 濃度から IL-2 の活性が見られ、その活性は TSST-1 投与量に依存して増加した。一方、T 除去脾細胞の培養上清にはいずれの濃度の TSST-1 でも IL-2 の活性が認められなかった。つぎに IL-2 産生の経時変化を調べた。マウス全脾細胞、X-PC の存在下での精製 T 細胞、

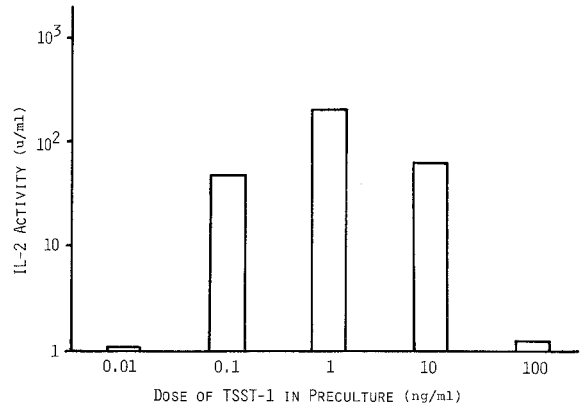


**Fig. 3** IL-2 production by splenic lymphocytes  
Splenic lymphocytes ( $2 \times 10^6$ /ml) were stimulated with graded doses of TSST-1 for 3 days. Cell-free culture supernatants were assayed for IL-2 activity. ○; whole spleen cells, △; T cells + X-PC ( $2 \times 10^5$ /ml), □; T-depleted spleen cells.



**Fig. 4** Kinetics of IL-2 production by splenic lymphocytes stimulated with TSST-1  
Splenic lymphocytes ( $2 \times 10^6$ /ml) were stimulated with 10ng/ml of TSST-1 for various periods. Cell-free culture supernatants were assayed for IL-2 activity. ○; whole spleen cell, △; T cells + X-PC ( $2 \times 10^5$ /ml), □; T-depleted spleen cells.

T 除去脾細胞を TSST-1 10ng/ml で刺激し, 24 時間から 120 時間まで培養して, 経時的に培養上清中の IL-2 活性を測定した. Fig. 4 で示すように, 全脾細胞, 精製 T 細胞の培養上清中の IL-2 活性は培養時間 48 時間から著明に高くなり, 72 時間まで経時的に増加した. TSST-1 による細胞増殖反応の場合と同様に, 全脾細胞は TSST-1 の投与量の変



**Fig. 5** Dose of TSST-1 required for induction of TSST-1-blasts

Splenic cells ( $2 \times 10^6$ /ml) which had been preincubated with several doses of TSST-1 for 3 days were restimulated with TSST-1 (10ng/ml) for 6 h. Cell-free culture supernatants were assayed for IL-2 activity.

化や, 刺激時間の変化に対して X-PC の存在下での T 細胞より著しく高い IL-2 産生を示した.

### 3. TSST-1 により一次刺激されたリンパ球に見られる IL-2 の産生

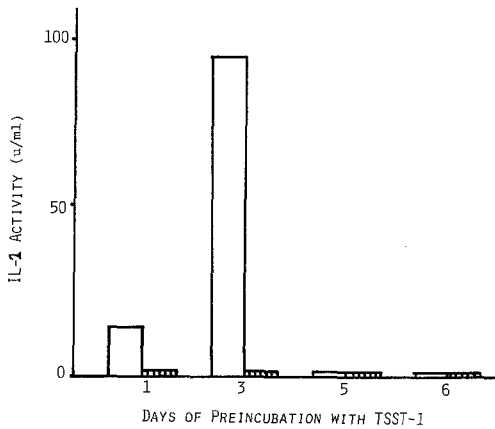
著者は TSST-1 で一次刺激された脾細胞は TSST-1 の二次刺激に対して短時間に大量の IL-2 を産生することを見出したので, この現象について解析を行った.

#### 1) 一次刺激に要する TSST-1 の濃度の検討

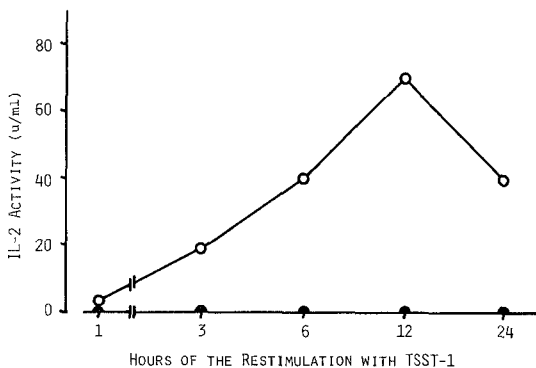
マウス脾細胞を 0.01ng/ml から 100ng/ml までの種々の濃度の TSST-1 で 3 日間一次刺激して得られたリンパ球を 10ng/ml の TSST-1 で 6 時間再刺激し, IL-2 産生について検討した. Fig. 5 に示すように, 1ng/ml の TSST-1 濃度で一次刺激した場合に, 最も高い IL-2 産生リンパ球が得られた. 100 ng/ml の TSST-1 で刺激した場合に得られたリンパ球はほとんど IL-2 産生は示さなかった.

#### 2) 一次刺激に要する培養時間の検討

マウス脾細胞を 1ng/ml の TSST-1 で 1, 3, 5 日間一次刺激して得られたリンパ球を 10ng/ml の TSST-1 で 6 時間再刺激して, IL-2 産生について検討した. Fig. 6 で示すように, TSST-1 3 日間刺激して得られたリンパ球は高い IL-2 産生を示



**Fig. 6** Duration of TSST-1 stimulation required for induction of TSST-1-blasts  
Splenic cells ( $2 \times 10^6$ /ml) which had been preincubated with TSST-1 (1ng/ml) for various days were restimulated with TSST-1 (10ng/ml) for 6 h. Cell-free culture supernatants were assayed for IL-2 activity.

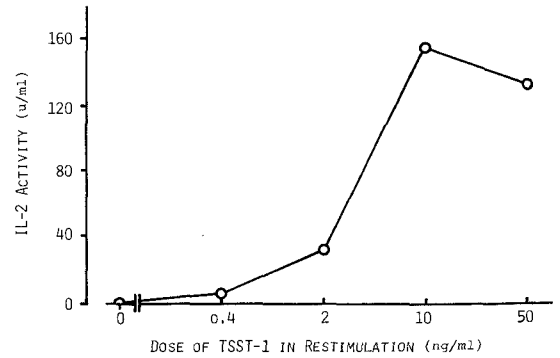


**Fig. 7** Kinetics of IL-2 production in TSST-1-restimulated lymphocytes  
Three-days TSST-1-stimulated lymphocytes were collected, adjusted to  $2 \times 10^6$ /ml, and cultured with (○) and without (●) TSST-1 (10ng/ml). Cell-free culture supernatants were assayed for IL-2 activity.

した。5日間以上に TSST-1で刺激された場合では、得られたリンパ球はまったく IL-2産生を示さなかった。

### 3) TSST-1再刺激の時間の検討

マウス脾細胞を1ng/mlの TSST-1で3日間刺激後得られたリンパ球を再び10ng/mlの TSST-1



**Fig. 8** The effect of TSST-1 concentrations on IL-2 reproduction

TSST-1-stimulated lymphocytes ( $2 \times 10^6$ /ml) were restimulated with graded doses of TSST-1 for 6h. Cell-free culture supernatants were assayed for IL-2 activity.

で刺激し、IL-2産生を検討した。Fig. 7に見られるように、一次刺激の場合 (Fig. 4)とは異なり、培養3時間から IL-2の産生が観察され、12時間後にその産生は最大となり、24時間後に低下した。

### 4) TSST-1再刺激時の投与量の検討

前実験と同じ条件で得られた一次刺激脾リンパ球を0.4ng/mlから50ng/mlの種々の濃度の TSST-1で再刺激し、6時間培養上清中の IL-2活性を調べた。Fig. 8で示すように、0.4ng/ml以上の濃度の TSST-1で IL-2活性が認められ、10ng/mlおよび50ng/mlの濃度では高い活性が認められた。以上の実験結果から、脾細胞を1ng/mlの TSST-1で3日間一次刺激した場合に最も高い力価の IL-2を産生する細胞が得られ、二次刺激による IL-2産生の誘導は10ng/mlの TSST-1で6~12時間の刺激で充分であることがわかった。以下の実験は上記の条件を用いて行われた。

### 4. TSST-1の二次刺激に反応するリンパ球の比重による分画

マウス脾細胞を1ng/mlの TSST-1で3日間刺激して得られたリンパ球を Percoll を用いて大型、低比重 (比重1.060~1.070) リンパ球と小型、高比重 (比重1.070以上) に分画した。それぞれの分画細胞を10ng/mlの TSST-1で再刺激し、6時間後の培養上清中の IL-2活性を調べた。結果は Table 1に示すように、低比重の大型リンパ球は

TSST-1の再刺激に反応して、大量のIL-2を産生したが、高比重の小型リンパ球のTSST-1再刺激に対する反応は非常に低かった。この結果は、脾細胞のTSST-1一次刺激後に得られたリンパ球の中で、TSST-1二次刺激に反応して短時間に大量のIL-2を産生する細胞は大型リンパ芽球であることを示している。

#### 5. TSST-1反応性リンパ球の誘導におけるT細胞の必要性

TSST-1反応性リンパ芽球の誘導におけるT細胞の関与について検討した。マウス全脾細胞とT除去脾細胞を1ng/mlのTSST-1で3日間一次刺激し、得られた脾リンパ球を10ng/mlのTSST-1で6時間再刺激し、IL-2産生について検討した。Table 2に示すように、全脾細胞群では高力価のIL-2産生が見られた。T除去脾細胞群ではIL-2の

産生がまったく見られなかった。この実験の結果はTSST-1反応性リンパ球の誘導はT細胞依存性であることを示している。

#### 6. TSST-1反応性リンパ芽球にはT細胞と非T細胞が含まれる

次にTSST-1反応性リンパ芽球のIL-2産生におけるT細胞除去の影響について検討した。TSST-1一次刺激後に得られた脾リンパ球を無処置細胞群とT細胞除去群に分け、両群を10ng/mlのTSST-1で6時間再刺激し、IL-2産生について検討した。Table 3で示すように、T除去細胞群は無処置細胞群と比較して、IL-2産生の低下が見られたが、無処置群の場合の約1/3の力価のIL-2が消失せずに観察された。

#### 考 察

TSST-1はTSSの原因毒素と考えられるが、同時にヒトやマウスのT細胞に対して強力な活性

**Table 1** TSST-1-induced lymphoblasts produce IL-2 in the restimulation with TSST-1

IL-2 production of density-separated cells <sup>a</sup>		TSST-1 (ng/ml)	IL-2 activity <sup>b</sup> (units/ml)
Fraction	Density (g/ml)		
Large cells	1.070/1.060	0	1.38
		10	57.6
Small cells	>1.070	0	< 0.1
		10	6.6

a. C57BL/6 murine spleen cells stimulated with TSST-1 (1ng/ml) for 3 days were fractionated by using Percoll.

b. Cell-free supernatants were harvested 6h after TSST-1 stimulation and assayed for IL-2 activity.

**Table 2** Requirement of T cells for induction of TSST-1-blasts

Spleen cells cultured <sup>a</sup> with TSST-1	TSST-1 restimulation (ng/ml)	IL-2 activity <sup>b</sup> (units/ml)
Whole	10	189
	0	0.1
T-depleted	10	<0.1
	0	<0.1

a. Whole and T-depleted spleen cells were stimulated with TSST-1(1ng/ml) for 3 days.

b. Cell-free culture supernatants were harvested 6h after restimulation and assayed for IL-2 activity.

**Table 3** Effect of T cell removal on the prompted IL-2 production in TSST-1-induced lymphoblasts

TSST-1-lymphoblasts	TSST-1(ng/ml)	IL-2 activity(units/ml) <sup>b</sup>
Whole	0	6.6
	10	334.8
Anti- $\theta$ -treated	0	5.18
	10	110.6

a. Lymphocytes recovered from the cultures of spleen cells stimulated with 1ng/ml of TSST-1 for 3 days were treated with anti- $\theta$  mAb and complement in 2 cycles.

b. Cell-free supernatants harvested 6h after restimulation and assayed for IL-2 activity.

物質として知られている。我々は TSST-1 のこの T 細胞に対する作用が TSS の発症要因の一つであるという考えのもとに、TSST-1 の生物作用の機序を解析している。今回、我々は TSST-1 の一次刺激をうけたマウス脾リンパ球は TSST-1 の再刺激により、短時間内 (3~12 時間) に高単位の IL-2 を産生することを見出したので、この細胞群に焦点を合わせて解析を行った。

TSST-1 は、①ヒト末梢血リンパ球やマウス脾細胞に作用して、細胞の増殖反応や IL-2 産生を誘導するが、T 細胞を除去すれば上記の反応はまったく見られなくなる<sup>9)10)</sup>、② TSST-1 はヒト (未発表) やマウスの精製 T 細胞や胸腺中の peanut agglutinin 非凝集性 T 細胞に作用して細胞増殖反応や IL-2 産生を誘導する<sup>9)</sup>、③ある種の T 細胞ハイブリドーマに作用して IL-2 産生を誘導する (未発表) ことより TSST-1 が T 細胞の非特異的活性因子であることは明らかである。

今回の研究で、まず TSST-1 が T 細胞に作用する外毒素であることを確認した。TSST-1 は全脾細胞や X-PC 存在下でのナイロンウールカラムと抗 Ia 抗体処理精製 T 細胞に作用して、72 時間前後でピークに達する細胞増殖反応 (Fig. 2) や IL-2 産生 (Fig. 4) を誘導するが、全脾細胞より T 細胞を除去すれば、これらの反応は完全に消失する。興味あることには、X-PC 存在下の精製 T 細胞 (90% 以上が  $\theta$  陽性細胞) は全脾細胞 (約 40% が  $\theta$  陽性細胞) に比較して IL-2 産生が著しく低いことが見出された。これは T 細胞以外の細胞分画が IL-2 産生に関与することを示すのであろう。なお、ナイロンウールカラムと抗 Ia 抗体処理により精製した T 細胞には natural killer (NK) 細胞が混在している<sup>19)</sup>ことが考えられ、今回の実験システムでは NK 細胞の IL-2 産生への関与は完全に否定できない。しかし抗アシアロ GM1 抗体と補体処理は全脾細胞の IL-2 産生にほとんど影響を与えないこと (未発表) から、TSST-1 に反応する主要な細胞群は T 細胞であると考えられる。Fig. 7 に見られるように、TSST-1 一次刺激により IL-2 産生を活発に行っている時期に回収された脾細胞は TSST-1 の再刺激により、一次刺激の場合 (Fig. 4)

と異なって、短時間内に高単位の IL-2 を産生する。TSST-1 の再刺激に対して最も高い反応性を示すリンパ球は脾細胞を 1ng/ml の TSST-1 で 3 日間培養した時に得られた。得られたリンパ球は 10ng/ml の TSST-1 で 6~12 時間刺激した時に高い IL-2 産生を示した。

TSST-1 の二次刺激に反応するリンパ球はどのような細胞であろうか。TSST-1 で一次刺激されたリンパ球を Percoll を用いて大型リンパ芽球 (比重 1.060~1.070) と小型細胞 (比重 >1.070) に分画すれば、IL-2 産生細胞は大型リンパ芽球に分画された (Table 1)。一次刺激時に脾細胞より T 細胞を除去すれば、この大型リンパ芽球が得られない (Table 2) ことより、この細胞群の誘導は T 細胞に依存性であることが明らかになった。興味あることには、しかし、IL-2 を産生する大型リンパ芽球細胞は T 細胞由来と非 T 細胞由来の 2 種の細胞群が含まれていることを示唆する結果が得られた。TSST-1 一次刺激により得られたリンパ芽球は抗  $\theta$  抗体と補体を用いて 2 回処理されても、TSST-1 の二次刺激に対する反応は無処置細胞群に比べると低下するが、まだ強い IL-2 産生能を示した (Table 3)。抗  $\theta$  抗体と補体の 2 回処理で得られた細胞群には T 細胞は含まれていないことは正常マウス脾細胞や、マウス脾細胞を concanavalin A (Con A) による一次刺激によって誘導されたリンパ芽球を抗  $\theta$  抗体と補体で 2 回処理すれば Con A の再刺激による IL-2 産生の誘導が完全に消失する (未発表) ことから示される。我々は現在、この抗  $\theta$  抗体と補体処理に抵抗性を示すリンパ芽球を同定すべく解析を進めている。

本研究で報告した TSST-1 の一次刺激により得られたリンパ芽球の TSST-1 二次刺激に対する IL-2 産生能の促進現象は、Con A を用いて行った Granelli-Piperno ら<sup>20)</sup>の実験結果と多くの類似点を持っている。彼らは Con A で一定時間刺激されたマウス脾細胞を Con A で再刺激すれば、数時間内に大量の IL-2 が産生されることを見出した。さらに彼らは IL-2 メッセンジャー RNA (mRNA) の検出実験から、観察された IL-2 産生の促進は細胞内に蓄積された IL-2 の放出ではなく、細胞の IL-2

産生過程の短縮によることを明らかにした。我々も現在 IL-2 mRNA 測定を準備中である。

Micusan ら<sup>7)</sup>は、TSST-1や Con A によるマウスの T 細胞活性化の研究で、TSST-1や Con A による細胞増殖反応の誘導と IL-2産生誘導に必要なマイトージェンの刺激量や刺激時間などに差違があることから、TSST-1に応答する T 細胞と Con A に応答する T 細胞は異なるサブセットに属している可能性を示唆している。我々は現在この両マイトージェン刺激によって誘導されたリンパ芽球の性質について解析中であり、両リンパ芽球は異なったサブセットに属することを示す結果を得ている（未発表）。

TSS 患者では病理組織学的検査により免疫組織の異常が観察されている<sup>21)</sup>。TSST-1が連続的に注入されたウサギは高い死亡率を示し、死亡例における病理組織所見はヒトの TSS 患者の病理組織像と著しい類似性を示す<sup>21)22)</sup>。特徴あることは、多臓器の非特異的炎症像やリンパ組織の異常が観察されることであり、TSST-1の免疫組織に対する作用が TSS に見られる病的反応の一因になっていることを示唆している。それゆえに TSST-1の免疫組織に対する影響を解析することは、この外毒素を産生するブドウ球菌による感染症の成り立ちを考える上で重要であると思われる。生体の免疫システムが TSST-1に反応して種々のリンフォカインを産生することは感染症に対する生体防御に有利に働くであろう。同じブドウ球菌の産生するエンテロトキシン A の投与は細菌感染に対する抵抗性を増強させることを示す実験報告<sup>23)</sup>がある。しかし、一方、前述したように TSS 患者とウサギの実験的 TSS における病理組織所見では共通して種々の臓器非特異的な炎症像やリンパ組織の異常が観察される。さらに、TSS の臨床症状には大量のインターフェロン<sup>24)</sup>や IL-2<sup>25)</sup>を投与された時に惹起される病的症状と類似した症状が見られる。TSST-1は T リンパ球に対する強力な刺激因子であることを考えれば、免疫組織が短期間に多量の TSST-1に暴露された個体では、種々のリンフォカインが大量に産生され、その結果として免疫組織の形態と機能に異常が生

じることが考えられる。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を戴いた内山竹彦主任教授に深謝すると共に懇切なる御教示を戴いた都立衛生研究所微生物部五十嵐英夫博士、藤川浩博士や当教室の諸先生方に心より感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Todd J, Fishaut M, Kapral F et al: Toxic shock syndrome associated with phage-group-1 staphylococci. *Lancet* ii: 1116-1118, 1978
- 2) Shands KN, Schmid GP, Dan BB et al: Toxic-shock syndrome in menstruating women. Association with tampon use and *Staphylococcus aureus* and clinical features in 52 cases. *N Engl J Med* 303: 1436-1442, 1980
- 3) Larkin SM, Williams DN, Osterholm MT et al: Toxic shock syndrome: Clinical, laboratory and pathologic findings in nine fatal cases. *Ann Intern Med* 96(Part 2): 854-864, 1982
- 4) Schlievert PM, Shands KN, Dan BB et al: Identification and characterization of an exotoxin from *Staphylococcus aureus* associated with toxic shock syndrome. *J Infect Dis* 143: 509-516, 1981
- 5) Bergdoll MS, Crass BA, Reiser RF et al: A new staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with toxic-shock-syndrome *Staphylococcus aureus* isolates. *Lancet* i: 1017-1021, 1981
- 6) Blomster-Hautamaa DA, Kreiswirth BN, Kornblum JS et al: The nucleotide and partial amino acid sequence of toxic shock syndrome toxin-1. *J Biol Chem* 261: 15783-15786, 1986
- 7) Micusan VV, Mercier G, Bhatti AR et al: Production of human and murine interleukin-2 by toxic shock syndrome toxin-1. *Immunology* 58: 203-208, 1986
- 8) Poindexter NJ, Schlievert PM: Toxic-shock-syndrome toxin 1-induced proliferation of lymphocytes: Comparison of the mitogenic response of human, murine, and rabbit lymphocytes. *J Infect Dis* 151: 65-72, 1985
- 9) Uchiyama T, Kamagata Y, Wakai M et al: Study of the biological activities of toxic shock syndrome toxin-1 I. Proliferative response and interleukin 2 production by T cells stimulated with the toxin. *Microbiol Immunol* 30: 469-483, 1986
- 10) Uchiyama T, Kamagata Y, Yan X-J et al:



- Study of the biological activities of toxic shock syndrome toxin-1 II. Induction of the proliferative response and the interleukin 2 production by T cells from human peripheral blood mononuclear cells stimulated with the toxin. *Clin Exp Immunol* 68 : 638-647, 1987
- 11) **Uchiyama T, Kamagata Y, Yan X-J et al :** Relative strength of the mitogenic and interleukin 2 production-inducing activities of staphylococcal exotoxins presumed to be causative exotoxins of toxic shock syndrome, toxic shock syndrome toxin-1, enterotoxins A, B and C to murine and human T cells. *Clin Exp Immunol* 75 : 239, 1989
  - 12) 鎌形有祐, 岡 光夫, 内山竹彦ほか : Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) によるマウス脾臓細胞からのマクロファージ活性化因子の産生. *感染症誌* 61 : 907-913, 1987
  - 13) **Jupin C, Anderson S, Damais C et al :** Toxic shock syndrome toxin-1 as an inducer of human tumor necrosis factors and  $\gamma$ -interferon. *J Exp Med* 167 : 752-761, 1988
  - 14) **Ikejima T, Dinarells CA, Gill DM et al :** Induction of human interleukin-1 by a product of *Staphylococcus aureus* associated with toxic shock syndrome. *J Clin Invest* 73 : 1312-1320, 1984
  - 15) **Schlievert PM :** Enhancement of host susceptibility to lethal endotoxin shock by staphylococcal pyrogenic exotoxin type C. *Infect Immun* 36 : 123-128, 1982
  - 16) 巖 小傑, 内山竹彦, 河内 章ほか : Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) の生物活性の研究. III. TSST-1 の前投与によるマウスの抗体産生反応の抑制作用の解析. *感染症誌* 62 : 483-489, 1988
  - 17) **Igarashi H, Fujikawa H, Usami H et al :** Purification and characterization of *Staphylococcus aureus* FRI 1169 and 587 toxic shock syndrome exotoxins. *Infect Immun* 44 : 175-181, 1984
  - 18) **Uchiyama T, Kamagata Y, Yoshioka M :** Mechanism of lipopolysaccharide-induced immunosuppression : Immunological activity of B cell subsets responding to T-dependent or T-independent antigens in lipopolysaccharide-preinjected mice. *Infect Immun* 45 : 367-371, 1984
  - 19) **Kiessling R, Petranyi G, Karre K et al :** Killer cells: A functional comparison between natural, immune T-cell and antibody-dependent *in vitro* systems. *J Exp Med* 143 : 772-780, 1976
  - 20) **Granelli-Piperno A, Inaba K, Steinman RM :** Stimulaton of lymphokine release from T lymphoblasts requirement for mRNA synthesis and inhibition by cyclosporin A. *J Exp Med* 160 : 1792-1802, 1984
  - 21) **Paris AL, Herwaldt LA, Blum D et al :** Pathologic findings in twelve fatal cases of toxic shock syndrome. *Ann Inter Med* 96(Part 2) : 852-857, 1982
  - 22) **Rasheed JK, Arko RJ, Feeley JC et al :** Acquired ability of *Staphylococcus aureus* to produce toxic shock-associated protein and resulting illness in a rabbit model. *Infect Immun* 47 : 598-604, 1985
  - 23) **Otani T, Katami K, Osada Y :** Stimulation by staphylococcal enterotoxin A of nonspecific resistance of mice to microbiol infection. *Infect Immun* 47 : 767-773, 1985
  - 24) **Gutterman JU, Blumenschein GR, Alexanian R et al :** Leukocyte interferon-induced tumor regression in human metastatic breast cancer, multiple myeloma, and malignant lymphoma. *Ann Inter Med* 93 : 399-406, 1980
  - 25) **Lotze MT, Matory YL, Ettinghausen SE et al :** *In vivo* administration of purified human interleukin 2. II Half life, immunologic, effects, and expansion of peripheral lymphoid cells *in vivo* with recombinant IL2. *J Immunol* 135 : 2865-2875, 1985