

Transforming growth factor- β 1による実験的自己免疫性 ぶどう膜網膜炎の抑制機構の解析

毛塚 剛司, 坂井 潤一, 横井 秀俊, 深井 徹, 臼井 正彦

東京医科大学眼科学教室

要 約

マウスの実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎(マウスEAU)はヒトぶどう膜炎のモデルとして従来から種々の検討が加えられてきた。今回、免疫抑制物質としての作用を持つ transforming growth factor- β 1(TGF- β 1)のマウスEAUにおける発症抑制効果について、免疫学的検討を行った。B 10. A マウスで樹立した光受容体間レチノイド結合蛋白(IRBP)特異的T細胞株のIRBP抗原刺激による反応は、TGF- β 1の添加で用量依存的な増殖抑制傾向を示した。この増殖抑制効果は、TGF- β 1によって抗原提示細胞を前処理しても有意な変化はなかった。また、IRBP免疫マウスの腹腔内にTGF- β 1を投与

したところ、用量依存的にマウスEAUの発症率および病理組織学的スコアの低下が認められ、TGF- β 1投与マウス群から得たリンパ節細胞のIRBP特異的増殖能は非投与群に比べて著明に低下していた。これらの結果から、TGF- β 1はマウスEAUに対して抑制性に働くサイトカインと考えられた。(日眼会誌 101: 847-852, 1997)

キーワード：実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎, TGF- β 1, IRBP, マウス, 抗原提示細胞

Inhibition of Experimental Autoimmune Uveoretinitis by Transforming Growth Factor- β 1 in B10. A Mice

Takeshi Kezuka, Jun-ichi Sakai, Hidetoshi Yokoi,
Tohru Fukai and Masahiko Usui

Department of Ophthalmology, Tokyo Medical College

Abstract

Experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in mice, an organ specific autoimmune disease, has been investigated as an animal model for human endogenous uveitis. In this study, we report on the immunosuppressive effect of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) on the development of EAU in mice. Inhibition by TGF- β 1 of proliferation of interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP)-specific T cell lines in B10.A mice against IRBP antigen was dose-dependent. However, when spleen cells used as the antigen presenting cell were first cultured with TGF- β 1, this anti-proliferation effect was abolished. When IRBP-immunized mice were

injected intraperitoneally with TGF- β 1, dose-dependent suppression of EAU was obtained. The proliferation response of lymph node cells from TGF- β 1 injected mice with IRBP-induced EAU was suppressed compared with phosphate buffered saline (PBS)-injected mice. These findings suggest that TGF- β 1 may be a cytokine that plays a role in suppressing IRBP induced EAU in mice. (J Jpn Ophthalmol Soc 101: 847-852, 1997)

Key words: Experimental autoimmune uveoretinitis, TGF- β 1, IRBP, Mouse, Antigen presenting cell

I 緒 言

光受容体間レチノイド結合蛋白(interphotoreceptor

retinoid-binding protein, IRBP)やS抗原などの網膜抗原をマウスに接種することにより発症する実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎(マウスEAU)は、ヒトぶどう膜網

別刷請求先：160 東京都新宿区西新宿6-7-1 東京医科大学眼科学教室 毛塚 剛司

(平成9年4月15日受付,平成9年6月20日改訂受理)

Reprint requests to: Takeshi Kezuka, M.D. Department of Ophthalmology, Tokyo Medical College, 6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

(Received April 15, 1997 and accepted in revised form June 20, 1997)

膜炎の発症機序を解析するモデルとしてこれまで種々の検討が加えられ、特に CD 4⁺T 細胞がその発症機序に大きく関与していることが知られている^{1)~7)}。成長因子の一種である transforming growth factor- β (TGF- β) は多種多様な機能を持ち合わせた分子量 25 kD のダイマー構造を持つペプチドであり、哺乳類では 3 つのアイソフォーム (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) がある。TGF- β は線維芽細胞などに作用して、細胞外マトリックスを構成する蛋白であるコラーゲンやフィブロネクチン、プロテオグリカンの産生を促進し、組織の線維化や損傷の修復作用を持つことが知られている⁸⁾。また、TGF- β には T 細胞、B 細胞およびナチュラルキラー細胞増殖抑制、またインターロイキン 2 レセプター発現抑制、主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex, MHC) クラス II 抗原発現抑制、および interferon- β (IFN- β) 産生抑制などの免疫抑制物質としての重要な作用もあるといわれている⁸⁾⁹⁾。そこで今回、我々は免疫抑制物質としての TGF- β に着目し、マウス EAU における TGF- β 1 の発症抑制効果について病理学的および免疫学的検討を行ったので報告する。

II 実験方法

1. 動物

日本 SLC 株式会社から購入した 5~8 週齢の雌の B 10.A マウス (50 匹) を用い、specific pathogen free (SPF) で飼育した。

2. 抗原作製

IRBP 抗原の作製は既報¹⁰⁾に準じた。すなわち、ウシ網膜に 0.03 M リン酸緩衝液 (phosphate buffered saline, PBS) (pH 7.6) を加え、ホモジナイズ後、15,000 g で遠心分離を行い、上清液を採取した。この上清液を sephacryl S-300 (Pharmacia LKB, Uppsala, Sweden) を用いてゲル濾過を行い、既存の抗ウシ IRBP ウサギ血清と反応する分画を採取し、Con-A sepharose アフィニティークロマトグラム (Pharmacia LKB, Uppsala, Sweden) を用いて精製した。

3. IRBP の接種

IRBP 100 μ g を PBS で 0.05 ml に調製し、*mycobacterium tuberculosis* H 37 Ra (DIFCO, Detroit, MI, USA) を 2.5 mg/ml に増量した完全フロインドアジュバント (DIFCO, Detroit, MI, USA) とともに混和し、総量 0.1 ml を足蹠に接種した。さらに、不活化百日咳菌懸濁液 (和光純薬工業) の菌体 10^{10} 個を PBS で総量 0.2 ml に調製し、腹腔内に注入した。

4. TGF- β 1 投与によるリンパ球増殖反応

IRBP 接種 28 日後にマウスを屠殺し、膝窩リンパ節を摘出した。摘出されたリンパ節から既報⁷⁾に準じて IRBP 抗原特異的 T 細胞の株化を行った。樹立された IRBP 特異的 T 細胞株を 96 穴マイクロプレートに 5×10^4 cell/

100 μ l/well ずつ入れ、同時に 2,000 rad で放射線照射した脾細胞 5×10^5 cell/100 μ l/well を抗原提示細胞として入れた。そして、刺激抗原としての IRBP 5 μ g/ml とともに TGF- β 1 を 3 穴同一条件で 1 ng/ml から段階希釈して添加し、90 時間培養した。培養終了 16 時間前に [³H]サイミジン (0.5 μ Ci/10 μ l/well) を加え、シンチレーションカウンターでその取り込みを測定し、結果は、[³H]サイミジン摂取率 (IRBP 刺激培養における [³H]サイミジン摂取量/IRBP 刺激のない培養における [³H]サイミジン摂取量) で表した。また、抗原提示細胞の TGF- β 1 投与による影響を検討する目的で、次の実験を行った。脾細胞を TGF- β 1 (1 ng/ml) で前処理した群および未処理群を作製し、各々 70 時間培養後に 2,000 rad 放射線処理したものを抗原提示細胞とし、IRBP 特異的 T 細胞株とともに前述の条件で培養した。この際、IRBP 10 μ g/ml もしくはコンカナバリン A (concanavalin A, con A) 3 μ g/ml で抗原刺激を行い、TGF- β 1 を 0.1 ng/ml 添加した群および非添加群を作製した。それらの T 細胞株をさらに 90 時間培養し、培養終了 16 時間前に [³H]サイミジンを加え、その取り込みを測定した。

5. TGF- β 1 投与によるマウス EAU 抑制効果

3 項と同様の方法で B 10.A マウスに IRBP を免疫し、免疫当日から TGF- β 1 (フナコシ) 0.1 μ g もしくは 0.5 μ g をマウス 1 匹当たり総量 0.1 ml に調整し、週に 3 回、計 12 回腹腔内投与した。対照として PBS のみを同様に投与した群を作製した。動物は接種日から数えて 28 日後に屠殺し、眼球を摘出した。眼球はブアン液で固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。また、同時に膝窩リンパ節細胞を採取し、リンパ節細胞 5×10^5 cell/100 μ l/well を放射線照射した等量の脾細胞とともに IRBP 5 μ g/ml の刺激下で 90 時間培養した。培養終了 16 時間前に [³H]サイミジン (0.5 μ Ci/10 μ l/well) を加え、その取り込みをシンチレーションカウンターを用いて測定し、結果を [³H]サイミジン摂取率で表記した。

6. 病理学的評価

EAU の重症度評価はぶどう膜網膜炎を発症したマウスのみに行い、表 1 に示すごとく視細胞外節の障害や眼内 (毛様体、脈絡膜、網膜) 細胞浸潤の程度、網膜血管炎の程度を総合的に評価し、病理組織学所見を 5 段階にスコア化した。視細胞外節の障害の程度は、- : 障害なし、 \pm : 障害ははっきりしない、1+ : 軽度障害あり、2+ : 障害ありとし、細胞浸潤の程度は、脈絡膜と網膜においては、1+ : 軽度あり、2+ : 中等度あり、3+ : 多数ありとしたが、毛様体の細胞浸潤については EAU を発症したマウスのすべてで同程度であり、スコアのいずれにおいても 1+ (軽度) であった。また、網膜血管炎の程度は、- : 血管炎なし、 \pm : はっきりしない、1+ : 軽度あり、2+ : 中等度あり、3+ : 多数ありとした。

表1 マウスEAUにおける病理組織学的スコア

スコア	視細胞外節の障害	細胞浸潤の程度			網膜血管炎の程度
		毛様体	脈絡膜	網膜	
0.5	—	1+	1+	1+	—
1.0	±	1+	1+	1+	±
2.0	1+	1+	1+	1+	1+
3.0	2+	1+	2+	1+	2+
4.0	2+	1+	3+	2+	3+

マウスEAU：マウスの実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎

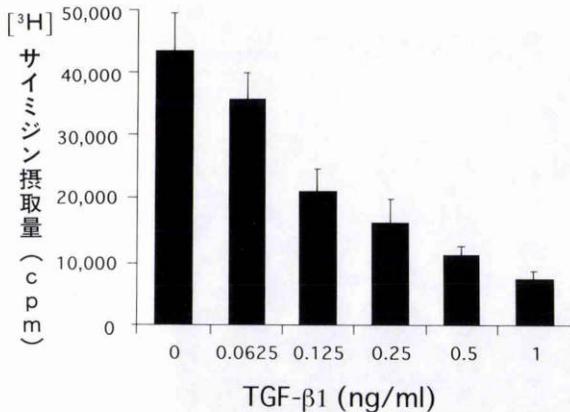


図1 Interphotoreceptor retinoid-binding protein(IRBP)特異的T細胞株におけるtransforming growth factor(TGF)-β1の抑制効果。TGF-β1の非投与群に比べ、IRBP特異的T細胞株の[³H]サイミジン摂取量が投与群で用量依存的に低下していた。グラフの中のバーは標準偏差を示す。t検定

III 結果

1. IRBP特異的T細胞株におけるTGF-β1の抑制効果

B10.Aマウス由来のIRBP特異的T細胞株を樹立し、TGF-β1投与によるIRBPに対するこの細胞株の増殖反応を検討した結果、TGF-β1を添加していない群に比べ、用量依存的に増殖抑制傾向があることが示された(図1)。また、con AでIRBP特異的T細胞株を刺激した場合でも同様にTGF-β1による増殖抑制傾向がみられた。しかし、TGF-β1による抗原提示細胞の前処理の有無に基づく抑制効果の差はみられなかった(図2A, B)。

2. TGF-β1投与によるIRBP免疫EAUマウスの抑制

B10.AマウスにIRBPを免疫した当日からTGF-β1を0.1μgもしくは0.5μg、また、対照としてPBSを腹腔内投与し、EAUの発症率を検討するとともに表1の基準に従った病理組織学的評価を行った。その結果、PBSを投与した対照群のマウスEAUの発症率は

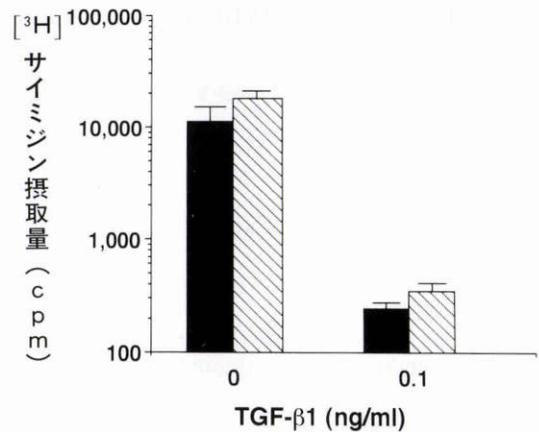


図2A TGF-β1非処理の抗原提示細胞におけるIRBP特異的T細胞株へのTGF-β1の影響。IRBP特異的T細胞株においてIRBP存在下またはコンカナバリンA(concanavalin A, con A)存在下のいずれの場合でもTGF-β1投与により増殖抑制がみられた。グラフの中のバーは標準偏差を示す。t検定

■：IRBP刺激, ▨：con A刺激

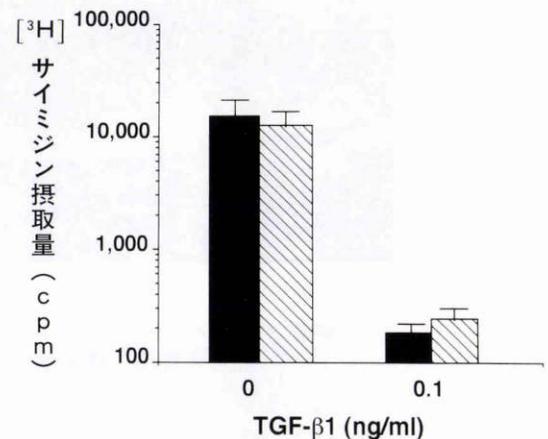


図2B TGF-β1前処理後の抗原提示細胞におけるIRBP特異的T細胞株へのTGF-β1の影響。IRBP特異的T細胞株においてIRBP存在下またはcon A存在下のいずれの場合でもTGF-β1投与により増殖抑制がみられ、抗原提示細胞となるマウス脾細胞をTGF-β1(1ng/ml)で前処理しても、非処理群(図2a)と比較して差は認められなかった。グラフの中のバーは標準偏差を示す。t検定

■：IRBP刺激, ▨：con A刺激

71.4%であったのに対して、TGF-β1を0.1μg投与した群においては50.0%と軽度低下しており、発症したマウスの病理組織学的スコアも対照群の2.2±0.7(平均値±標準偏差)に比べ0.5±0.2と有意に低下していた。TGF-β1を0.5μg投与した群では、EAU発症率は16.7%と対照群に比べ著明に低下しており、発症したマウスの病理組織学的スコアも0.5と低下していた(表2)。TGF-β1非投与群の病理組織所見では網膜および

表2 TGF- β 1 投与による IRBP 免疫 EAU マウスの抑制

TGF- β 1 1回投与量 (μ g/マウス)	EAU 発症率 (%)	(組織学的スコアの 平均値*)
PBS (対照)	5/7 (71.4%)	(2.2 \pm 0.7)
0.1	4/8 (50.0%)	(0.6 \pm 0.2)**
0.5	1/6 (16.7%)	(0.5)

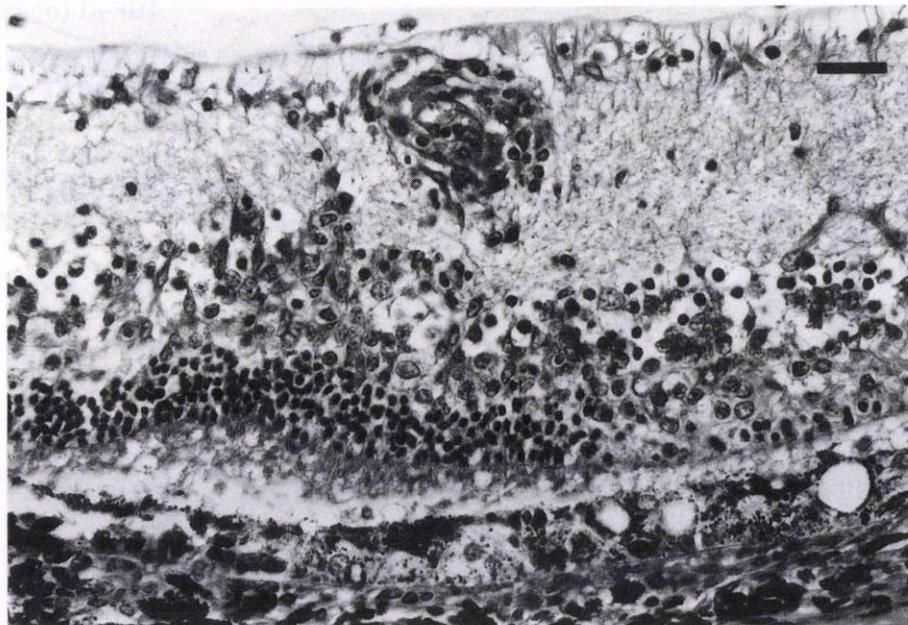
*: 組織学的スコアの平均値は発症したマウスのみで算定した。

** : 対照群と比較して, Mann-Whitney 検定により $p < 0.05$ で有意に低下していた。

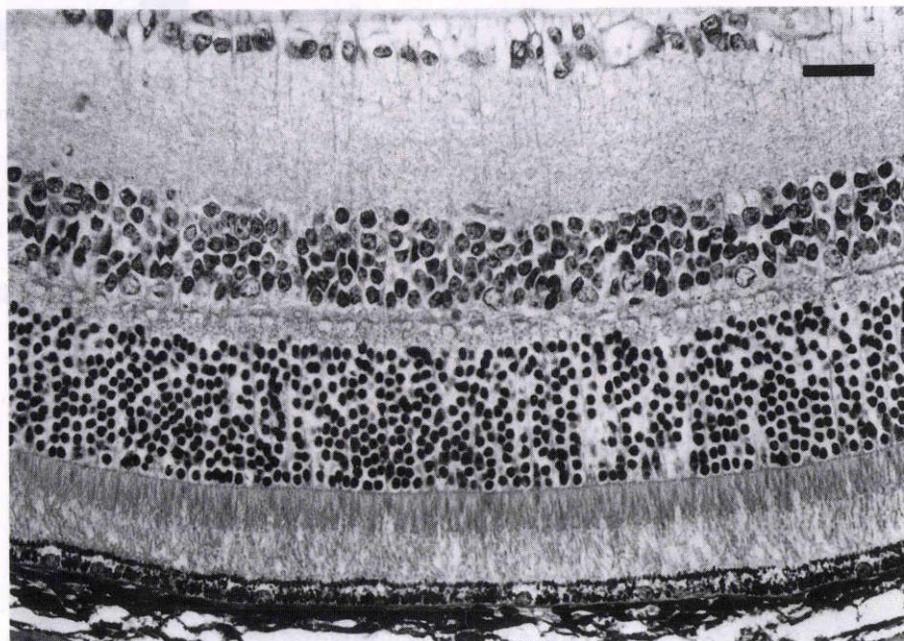
TGF- β 1 : transforming growth factor- β 1

IRBP : interphotoreceptor retinoid-binding protein

脈絡膜に主として単核球の浸潤がみられ, 網膜血管炎を伴い, 網膜視細胞層は著しく破壊されていた(図3A)。一方, TGF- β 1 0.5 μ g 投与したマウスでは炎症細胞の浸潤を認めず, 正常な網膜構造を保持していた(図3B)。さらに, IRBP 免疫後28日目に採取した膝窩リンパ節細胞を用いて, IRBP に対するリンパ球増殖反応を検討したところ, TGF- β 1 非投与群の $[^3\text{H}]$ サイミジン摂取率が31であるのに対し, TGF- β 1 を0.1 μ g 投与した群では2.3, 0.5 μ g 投与した群では1.4と著明に低下していた(図4)。



A



B

図3 IRBP 免疫マウスにおける28日目の眼組織像(ヘマトキシリン・エオジン染色)。

A : 網膜および脈絡膜に主として単核球の浸潤がみられ, 網膜血管炎を伴い視細胞層は著しく破壊されている。バーは200 μ m

B : 網脈絡膜に炎症細胞の浸潤はみられず, 正常な網膜構造を保持している。バーは200 μ m

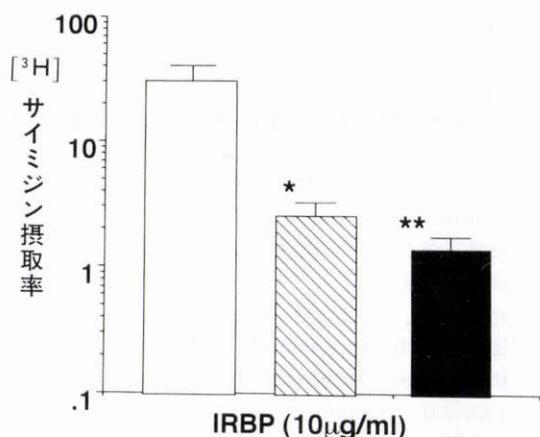


図4 マウスの実験的自己免疫性ぶどう膜炎におけるIRBP感作T細胞の増殖能。

TGF- β 1を生体内に0.1 ngもしくは0.5 ngの濃度で投与した場合のIRBP刺激によるリンパ球増殖反応。[3 H]サイミジン摂取率は、IRBP刺激培養における[3 H]サイミジン摂取量/IRBP刺激のない培養における[3 H]サイミジン摂取量を表す。TGF- β 1 0.1 μ g投与群、および0.5 μ g投与群ではMann-Whitney検定により*： $p < 0.01$ ，**： $p < 0.01$ で有意に低下していた。グラフの中のバーは標準偏差を示す。

□：対照群(n=5)，▨：TGF- β 1(0.1 μ g)群(n=5)，■：TGF- β 1(0.5 μ g)群(n=5)

IV 考 按

TGF- β は免疫抑制物質として最近注目されており、現在までラット臍移植¹¹⁾、実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)¹²⁾¹³⁾、実験的自己免疫性関節炎¹⁴⁾など種々の動物モデルにおいて発症抑制実験がなされている。今回検討したマウスEAUは、ヘルパーT細胞がエフェクター細胞として重要であり、自己免疫が病像形成に主要な役割を果たすことが知られている⁷⁾。ヘルパーT細胞タイプ1(Th1)としての性格をもつことが知られているIRBP特異的T細胞を用いてTGF- β 1の投与による効果を検討したところ、用量依存的にT細胞株の増殖が抑制されることが示された(図1)。また、TGF- β の*in vivo*の投与でも表2に示すごとく、マウスEAUの発症が用量に依存して抑制されることが認められた。

ラットEAEにおいてサブレッサーCD4⁺T細胞から産生されたTGF- β が脳炎の発症を抑制するという報告¹⁵⁾や、マウスEAEにおいて抗TGF- β 抗体を投与することにより発症が促進したとの報告¹⁶⁾がある。また、TGF- β 1欠損マウスでは多発性の炎症性疾患が発症し、早期に死亡することからTGF- β 1は自然発症の自己免疫病の抑制において重要な役割を担っていると考えられている¹⁷⁾。さらに、anterior chamber associated immune deviation(ACAID)の成立にもTGF- β の関与が知られており¹⁸⁾、眼内における免疫寛容にも重要な役割を果た

していると思われる。このようなTGF- β による免疫抑制作用の機序として、TGF- β により生体内の免疫応答がヘルパーT細胞タイプ2(Th2)にシフトして発症の抑制に働く可能性や、TGF- β 以外のサイトカインがネットワークとして働く可能性などが考えられているが、現時点では明らかではない。

TGF- β はT細胞レベルの抑制の他にMHCクラスII発現抑制も行うという報告¹⁹⁾があり、マウスEAUにおいても抗原提示細胞レベルでの抑制機構が関与している可能性も考えられたため実験を行ったが、抗原提示細胞とした同系のマウス脾細胞をTGF- β 1で前処理してもIRBP特異的T細胞株の増殖反応に差はなく、TGF- β による抗原特異的T細胞の抑制は、抗原提示細胞レベルではなく、Tリンパ球レベルで生じている可能性が示唆された。ただし、図1に示したTGF- β 1添加によるIRBP特異的T細胞株に比べ、図2の70時間培養した抗原提示細胞を用いたIRBP特異的T細胞株の[3 H]サイミジン摂取量の方が低い結果が得られ、TGF- β 1処理、未処理に拘わらず、MHCクラスIIの発現が抑制されている可能性が考えられ、今後検討が必要と思われる。

また、抗原の経口投与による種々の自己免疫疾患の抑制に際してもTGF- β の関与が示唆されている²⁰⁾。ミエリン塩基性蛋白(myelin basic protein, MBP)の経口投与によってEAEが抑制され、その抑制機序にはCD8⁺T細胞やTh2細胞が関与するとされているが、その他に経口投与で誘導されたサブレッサーT細胞がTGF- β を産生しており、このTGF- β を含む細胞上清が抗原特異的CD4⁺T細胞の増殖を抑制するという報告²¹⁾もある。マウスEAUにおいても網膜抗原の経口投与によるラットEAUの抑制ではCD8⁺T細胞が関与しているとされている²²⁾²³⁾が、TGF- β をも含めた液性物質により網膜抗原特異的T細胞が抑制されるという可能性も否定できない。

今回の実験によりTGF- β 1は*in vitro*、*in vivo*のいずれにおいてもマウスEAUに対して抑制性に働くサイトカインであることが判明したが、将来のヒト難治性ぶどう膜炎の治療に向けて、このような抑制性のサイトカインの研究は意義あるものと考えられる。

文 献

- 1) Caspi RR, Roberge FG, Chan CC, Wiggert B, Chader GJ, Rozenszajn LA, et al: A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J Immunol* 140: 1490-1495, 1988.
- 2) Caspi RR, Chan CC, Grubbs BG, Silver PB, Wiggert B, Parsa CF, et al: Endogenous systemic IFN- γ has a protective role against ocular autoimmunity in mice. *J Immunol* 152: 890-899, 1994.

- 3) **Rizzo LV, Silver P, Wiggert B, Hakim F, Gazzinelli RT, Chan CC, et al:** Establishment and characterization of a murine CD 4⁺ T cell line and clone that induce experimental autoimmune uveoretinitis in B 10.A mice. *J Immunol* 156: 1654—1660, 1996.
- 4) **山川直之, 田中孝男, 土方 聡, 此枝義記, 白井正彦:** コンジェニックマウスを用いた実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎における因子の検討. *日眼会誌* 98: 760—764, 1994.
- 5) **竹内 大, 田口 修, 市側稔博, 坂井潤一, 白井正彦:** ぶどう膜網膜炎自然発症マウスにおける眼球および松果体の単独あるいは併合摘出による効果. *日眼会誌* 98: 234—239, 1994.
- 6) **Nakamura S, Yamakawa T, Sugita M, Kijima M, Ishioka M, Tanaka S-I, et al:** The role of tumor necrosis factor-alpha in the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35: 3884—3889, 1994.
- 7) **Kezuka T, Sakai J, Yokoi H, Takeuchi M, Okada A, Taguchi O, et al:** Peptide-mediated suppression of experimental autoimmune uveoretinitis in mice: Development of a peptide vaccine. *Int Immunol* 8: 1229—1235, 1996.
- 8) **Thomson A:** The cytokine handbook. 2nd ed. In: Derynck R (Ed): *Transforming growth factor-beta*. Academic Press, San Diego 319—342, 1994.
- 9) **Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB, Jakowlew S, Alvarez-Mon M, Derynck R, et al:** Production of transforming growth factor β by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med* 163: 1037—1050, 1986.
- 10) **Redmond TM, Wiggert B, Robey FA, Nguyen NY, Lewis MS, Lee L, et al:** Isolation and characterization of monkey interphotoreceptor retinoid-binding protein, a unique extra-cellular matrix component of the retina. *Biochemistry* 24: 787—793, 1985.
- 11) **Carel JC, Schreiber RD, Falqui L, Lacy PE:** Transforming growth factor β decreases the immunogenicity of rat islet xenografts (rat to mouse) and prevents rejection in association with treatment of the recipient with a monoclonal antibody to interferon γ . *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 1591—1595, 1990.
- 12) **Racke MK, Dhib-Jalbut S, Cannella B, Albert PS, Raine CS, McFarlin DE:** Prevention and treatment of chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis by transforming growth factor- β 1. *J Immunol* 146: 3012—3017, 1991.
- 13) **Santambrogio L, Hochwald GM, Saxena B, Leu CH, Martz JE, Carlino JA, et al:** Studies on the mechanism by which transforming growth factor- β (TGF- β) protects against allergic encephalomyelitis. *J Immunol* 151: 1116—1127, 1993.
- 14) **Brandes ME, Allen JB, Ogawa Y, Wahl SM:** Transforming growth factor β 1 suppresses acute and chronic arthritis in experimental animals. *J Clin Invest* 87: 1108—1113, 1991.
- 15) **白井正彦:** 免疫と眼. 実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎の発症機序について. *日眼会誌* 96: 1580—1607, 1992.
- 16) **Racke MK, Cannella B, Albert P, Sporn M, Raine CS, McFarlin DE:** Evidence of endogenous regulatory function of transforming growth factor- β 1 in experimental allergic encephalomyelitis. *Int Immunol* 4: 615—620, 1992.
- 17) **Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, et al:** Targeted disruption of the transforming growth factor- β 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 359: 693—699, 1992.
- 18) **Streilein JW, Wilbanks GA, Taylor A, Cousins S:** Eye-derived cytokines and the immunosuppressive intraocular microenvironment: A review. *Curr Eye Res* 11: 41—47, 1992.
- 19) **Czarniecki CW, Chiu HH, Wong GHW, McCabe SM, Palladio M:** Transforming growth factor- β 1 modulates the expression of class II histocompatibility antigens on human cells. *J Immunol* 140: 4217—4223, 1988.
- 20) **Weiner HL, Friedman A, Miller A, Khoury SJ, Al-Sabbagh A, Santos L, et al:** Oral tolerance: Immunologic mechanism and treatment of animal and human organ-specific autoimmune diseases by oral administration of autoantigens. *Annu Rev Immunol* 12: 809—837, 1994.
- 21) **Miller A, Lider O, Roberts AB, Sporn MB, Weiner HL:** Suppressor T cells generated by oral tolerization to myelin basic protein suppress both *in vitro* and *in vivo* immune responses by the release of transforming growth factor β after antigen-specific triggering. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 421—425, 1992.
- 22) **Nussenblatt RB, Caspi RR, Mahdi R, Chan CC, Roberge F, Lider O, et al:** Inhibition of S-antigen induced experimental autoimmune uveoretinitis by oral induction of tolerance with S-antigen. *J Immunol* 144: 1689—1695, 1990.
- 23) **Suh ED, Vistica BP, Chan CC, Raber JM, Gery I, Nussenblatt RB:** Splenectomy abrogates the induction of oral tolerance to S-antigen induced experimental autoimmune uveoretinitis. *Curr Eye Res* 12: 833—839, 1993.