

**P1-8****接触性皮膚炎のメカニズムの解明～IL-27およびIL-35の共通サブユニットEBI3の新たな役割～**

(医学部3年)

○松本 龍門、有菌 英里、佐藤 瑠美  
北村 美樹

(医学総合研究所免疫制御)

溝口 出、善本 隆之

(免疫学)

樋口 要、水口純一郎

接触性皮膚炎は、化学物質や金属などの低分子物質に対する接触過敏症 (CHS) で、細胞性免疫により引き起こされる遅延型反応である。現在では、主に IL-17 を産生する CD8<sup>+</sup> T (Tc17) 細胞が CHS 反応誘導に重要であると考えられている。一方、IL-6/IL-12 ファミリーのヘテロダイマーサイトカイン IL-27 (EBI3/p28) と IL-35 (EBI3/p35) は、サブユニット EBI3 を共有している。本研究では、この EBI3 の欠損マウスを用いて CHS 反応における EBI3 の役割と作用機序について検討を行った。

ハプテンとして FITC および DNFB を野生型および EBI3 欠損マウスの背中皮膚に塗布した感作5日後に、同じハプテンを耳介に塗布し経時的にその厚を測定した。その結果、EBI3 欠損マウスでは、いずれのハプテンに対しても耳介の腫れが減弱した。次に耳介における EBI3 mRNA 発現誘導をリアルタイム RT-PCR で調べたところ、惹起相ではハプテン塗布後 24～72 時間 EBI3 発現が増強され、感作相においても 24 時間後 EBI3 の発現増強が見られた。さらに、その作用機序について調べると、まず、感作時に耳の皮膚で抗原である FITC を捕らえた樹状細胞の所属リンパ節への移動には有意な差は見られなかった。次に、感作5日後、所属リンパ節細胞の細胞内のサイトカイン染色では、EBI3 欠損マウスで Tc17 細胞からの IL-17 産生が有意に低下した。最後に、WSX-1 (IL-27Rα 鎖) および p35 欠損マウスを用いたところ、いずれの欠損マウスでも CHS 反応の低下は見られなかった。

以上の結果より、EBI3 は、IL-27 および IL-35 非依存的に Tc17 細胞からの IL-17 産生を増強し CHS 反応の誘導に重要な役割を担っていることが明らか

になった。EBI3 は、接触性皮膚炎の治療のターゲットになる可能性が示唆される。

**P1-9****OVA 結合ナノ粒子による抗体産生調節機序の検討**

(医学部3年)

○野牛 聖那、関 敬大

(免疫学)

矢那瀬紀子、豊田 博子、秦 喜久美

水口純一郎

【目的】 卵白アルブミン (OVA) 結合ナノ粒子による抗体産生の調節機序を解明する

【背景】 現在接種されている百日咳などのワクチンにはアルミニウム製剤がアジュバントとして添加されている。アルミニウム製剤は、安価で抗体産生を強く誘導するという利点を持っているが、IgE 抗体産生によるアレルギー反応が問題となっている。このため、より安全性の高いワクチンを提供するアジュバントの開発が急務の課題となっている。当講座で開発した OVA 結合ナノ粒子をマウスに免疫すると、アルミニウム製剤と同等の抗原特異的 IgG1 が産生された。また、有意の IgG2a/IgG2b 産生が誘導されたが、抗原特異的 IgE 産生は著明に抑制されていた。免疫されたマウス由来の脾臓 T 細胞では IL-4、IL-21 の発現が増強していることから、OVA 結合ナノ粒子は T 細胞を活性化していることが示されている (矢那瀬ら、未発表データ)。今報告では、OVA 結合ナノ粒子が B 細胞を介してアジュバント効果を発揮しているか否かを検討した。

【材料と方法】 Balb/c マウス♀ (8 週齢) に OVA 結合ナノ粒子あるいは OVA in alum で 2 回皮下注射し、2 回目免疫の 1 週間後に脾臓を採取した。脾臓細胞から B 細胞を MACS により単離精製し、96 穴プレートに分注後、抗 CD40 抗体、IL-4、IL-21、TGF-β、LPS を添加して 5 日間培養した。培養後、培養上清を回収し ELISA にて抗原特異的 Ig を測定した。総 IgE 産生は細胞を回収、mRNA 抽出して Real time PCR にて解析した。

【実験結果】 OVA 結合ナノ粒子で免疫されたマウス由来の B 細胞を抗 CD40 抗体、IL-4、および IL-21 存在下で培養すると OVA 特異的 IgG1 産生が

増強され、TGF- $\beta$ 、LPS 存在下で培養すると OVA 特異的 IgG2b 産生が増強された。また、抗 CD40 抗体と IL-4 で刺激すると、IgG および総 IgE 産生が誘導されたが、IL-21 添加により IgG 産生はさらに増強された。一方、総 IgE 産生は抑制された。

【結論】 OVA 結合ナノ粒子は T 細胞および B 細胞を介してアジュバント作用を発揮しており、その抗体産生調節には T 細胞由来 IL-21 が関わっている可能性が示唆された。

### P1-10

#### E3 ユビキチン化酵素シノビオリンの機能解析

(医学総合研究所)

○荒谷 聡子、藤田 英俊、西岡久寿樹  
中島 利博

代表的な難治性運動器疾患である関節リウマチ (Rheumatoid arthritis : RA) は ① 滑膜細胞の増殖異常、② 免疫応答、③ 軟骨変性、骨破壊、④ 線維化といった多様な病態からなる。当研究室では滑膜細胞の活性化と過増殖に着目し、滑膜増殖に関与する因子として E3 ユビキチン化酵素であるシノビオリンを発見した。シノビオリン遺伝子改変動物および選択的酵素阻害剤を作製しこれらを用いた解析からシノビオリンが RA の発症、病態に重要な因子であることを明らかにした。上記の結果から小胞体ストレスに関連するタンパク質分解・品質管理の異常が、RA 滑膜細胞過増殖という病態に関与するというモデルを提唱した (Genes Dev., EMBO J.)。さらにシノビオリン欠損マウスの解析から、シノビオリンが細胞外マトリクスであるコラーゲンの発現および成熟を制御し、滑膜増殖だけでなく組織線維化に関与することが示唆された (PLoS One)。このように生体内においてシノビオリンはユビキチン化を介して様々な機能を有していると考えられ、シノビオリン欠損マウスは胎生致死であることからその重要性がうかがえる。そこで時期、組織特異的シノビオリン欠損マウスを作製し、個体内でのシノビオリンの機能解析をおこなった。

### P1-11

#### アロマターゼ阻害剤による骨量減少に対する各種ビスフォスフォネート製剤の効果比較

(茨城：乳腺科)

○西村 基、名倉 直彌、越川佳代子  
藤田 知之、藤森 実

【初めに】 乳癌診療ガイドラインにおいて、アロマターゼ阻害剤 (AI) 使用患者では骨密度 DEXA を投与前、投与後に定期的測定し、YAM70% 未満の骨粗鬆症患者に対してビスフォスフォネート (BP) 製剤投与を考慮することが推奨されている。今回当院で AI 投与中の骨粗鬆症患者に BP 製剤として各種薬剤 (アレンドロネート、ミノドロネート) 併用投与後それぞれの骨密度改善効果の違いを検討したので報告する。

【対象と方法】 ホルモン依存性 n0 乳癌において、術後内分泌療法として AI 投与を開始し、その投与前・投与中に測定した骨密度において、YAM 70% 以下となった症例。年齢は 57 歳~90 歳、平均 71 歳。アレンドロネートあるいはセドロネート投与群 47 例を対象に、ミノドロネートを投与群 33 例の骨密度改善効果を比較検討した。同時に骨吸収マーカーである血中酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRACP-5b) を測定して骨代謝モニタリングの検討も行った。

【結果】 各群とも 1 年後より骨密度の有意な上昇を認めた。両群間の比較では、投与後の推移に明らかな有意差は認めなかった。骨密度の平均変化率ではアレンドロネート投与群との比較においてミノドロネート投与群で若干高くなる傾向を示した。骨代謝モニタリングでは両群とも BP 製剤投与後に TRACP-5b は有意な低下を示し骨吸収が有意に抑制されていることを示した。両群間では差を認めなかった。

【まとめ】 BP 製剤各種で明らかな違いを認めなかったが、ミノドロネート投与群では骨密度変化率がアレンドロネート群と比較して高くなる傾向を示した。