

トカインに対する気道過敏反応はサイトカインの点鼻により誘導し、気道平滑筋細胞表面の IL-13 受容体発現は FACS で測定した。

【結果】 JNK2<sup>+</sup> マウスでは OVA により誘導される気道過敏反応の抑制が認められた。肺胞洗浄液 (BALF) 中の IL-4、IL-13 レベルは低下していた。また、OVA 特異的 IgE 抗体の抑制が見られた。IL-4 あるいは IL-13 を点鼻し気道過敏反応を調べたところ、WT マウスとの差は見られなかった。さらに OVA と IL-13 を同時に点鼻したところ、WT と同程度の気道過敏反応が JNK2<sup>+</sup> マウスで誘導された。また、IL-13 $\alpha$ 1 受容体を発現する気道平滑筋細胞の割合に差は見られなかった。以上の結果より JNK2<sup>+</sup> マウスにおける気道過敏反応の抑制は IL-13 に対する気道平滑筋の反応性の差ではなく、IL-13 の産生が抑制されたことによると思われる。

#### P1-5.

#### イミキモド誘導性乾癬モデルにおけるストレス応答性 MAP キナーゼ ASK1 の役割

(医学部医学科3年)

○川口謙太郎、堀内由莉乃

(医学総合研究所 免疫制御研究部門)

溝口 出、金子幸太郎、角田 廉  
千葉祐規乃、樋口 要、善本 隆之

(皮膚科)

前田 龍郎、川口 敦子、原田 和俊  
大久保ゆかり、坪井 良治

(総合診療科・さがみはらファミリークリニック)

水上 潤哉

(免疫学)

水口純一郎

乾癬の皮疹は、厚い鱗屑を伴う角化性紅斑局面からなる。Th17 細胞依存性の慢性炎症性角化症で、表皮角化細胞の最終分化阻害と増殖亢進によると考えられている。最近、抗ウイルス薬イミキモド(IMQ)の頻回塗布により誘導する皮膚炎症が、マウス乾癬モデルとして汎用されている。また、乾癬炎症部位では、ストレス応答性 MAP キナーゼ p38 発現が病態変化と相関し、さらに、p38 阻害剤が炎症抑制効果を示すことが報告された。ASK1 は、この p38 シグナルの上流に位置する MAP キナーゼで、細胞死

や炎症性サイトカイン産生の誘導に関与し、角化細胞の分化促進作用も有している。そこで、本研究では、ASK1 欠損マウスを用いて、IMQ 誘導性乾癬の発症や病態形成における ASK1 の役割について検討を行った。

野生型および ASK1 欠損マウスの除毛した背部に IMQ を 6 日間連続塗布すると、経時的に皮膚の紅斑や鱗屑、肥厚が顕著になり乾癬様の症状を発症した。この時、野生型に比べ ASK1 欠損マウスでは、これらの炎症スコアは有意に高く、組織学的解析でも表皮の肥厚や浸潤細胞の増加が見られた。さらに、炎症皮膚から RNA を抽出しリアルタイム RT-PCR を行ったところ、ASK1 欠損マウスでは、IL-22 や IL-17、TNF- $\alpha$ 、CXCL1 などの発現が増加していた。次に、IMQ を 1 回塗布 24 時間後の皮膚の組織学的解析を行うと、細胞死が誘導された Tunel 陽性細胞の数は殆ど変わらなかったが、ASK1 欠損マウスで Ki67 陽性の増殖性細胞数が増加していた。

以上より、ASK1 は、乾癬発症時に炎症性サイトカイン産生の誘導ではなく、乾癬発症に抑制的と考えられる表皮角化細胞の正常な分化誘導の維持に働いている可能性が明らかになった。これらより、乾癬患者において、ASK1 発現や活性化を増強することが乾癬の新しい治療に繋がる可能性が示唆される。

#### P1-6.

#### ビタミン K 類の免疫抑制作用

(大学：東京薬科大学臨床薬理学教室)

○畑中 浩成、杉山健太郎、平野 俊彦

【背景】 ビタミン K (VK) 類は、本来の VK としての作用の他、抗腫瘍効果等の生物活性を有することが知られている。しかし、VK 類の免疫系に対する効果についてはこれまでほとんど報告がない。そこで本研究では、VK 類の免疫抑制作用について、健常者末梢血単核細胞 (PBMC) を用いて検討した。【方法】 健常者 8 名 (男性 4 名、女性 4 名、平均年齢 30.8 歳) の静脈血 20 mL をヘパリン採血した。細胞分離液を用いて、ヘパリン血から PBMC を分離し、検体とした。T 細胞マイトゲン (増殖因子) および種々の濃度の VK1、VK2、VK3、または VK5 の存在下に細胞を 4 日間培養し、細胞増殖率

を算定した。PBMC から分泌された7種のサイトカイン量は、ビーズアレイ法により測定した。制御性T細胞を含む各種T細胞サブセットの割合は、特異抗体を用いたフローサイトメトリー法により測定した。統計解析には Graph Pad Prism4 を用いた。

【結果】 VK1 はPBMC 増殖に影響を及ぼさなかったが、VK2、VK3、およびVK5 はマイトゲン応答性PBMC 増殖を濃度依存的に抑制した。これらのVK は、PBMC からの種々のサイトカイン分泌を抑制した。またVK3 とVK5 は、PBMC 中の制御性T細胞の割合を増加させた。

【結論】 種々のVK に免疫抑制作用のあることを初めて明らかとした。VK3 およびVK5 は、PBMC からの各種サイトカイン産生を抑制するとともに制御性T細胞の割合を増加させ、PBMC 増殖を抑制するものと考えられた。

**P1-7.**

**原発性癬痕性脱毛症における IL-17 陽性肥満細胞の免疫組織学的解析**

(大学病院：皮膚科)

- 保母 彩子、前田 龍郎、内山 真樹
- 入澤 亮吉、伊藤 友章、原田 和俊
- 山崎 正視、坪井 良治

原発性癬痕性脱毛症 (primary cicatricial alopecia : PCA) は毛包の bulge 部分に炎症が起こり、毛包幹細胞が破壊されることによって毛髪再生が不能になる不可逆性の脱毛疾患である。PCA は毛包周囲に浸潤する細胞により、リンパ球性、好中球性、混合性に分類されているが、その病態生理は未だ不明であり、明確な治療法も確立されていない。今回我々は、リンパ球性の毛孔性扁平苔癬 (lichen planopilaris : LPP) 10 例、好中球性の禿髪性毛包炎 (folliculitis decalvans : FD) 10 例の組織中に浸潤している細胞について免疫組織学的に解析した。ホルマリン固定されたパラフィン病理切片に、トルイジンブルー染色および HLA-DR、CD1a、3、4、8、68 について抗体免疫染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。その結果、すべての症例の真皮全層、特に炎症の強い部位に肥満細胞が散在性に浸潤する特徴的な染色像を得た。さらに、これらの肥満細胞について、Mast cell protease (Tryptase、Chymase)、IL-

17A、17RA、23、23R を間接蛍光抗体法によって染色し、共焦点レーザー顕微鏡 (Carl Zeiss LSM5) にて観察を行った。その結果 ① Tryptase 陽性、Chymase 陽性、② IL-17A 陽性、③ IL-23 陽性、④ IL-23R 陽性の結合組織型肥満細胞の存在が新たに明らかとなった。IL-17 陽性肥満細胞の割合を病変組織と頭部健常コントロール組織とで比較すると、病変組織で有意に高値を示した。

以上の結果から我々は、近年 Th17 細胞の同定から注目される IL-23/IL-17 軸による自己炎症反応が LPP、FD の病態形成にも大きく影響していると推察した。LPP、FD の IL-17 陽性肥満細胞 (IL-23+/IL23R+) は、Th17 細胞 (IL-23-/IL23R+) と異なり、IL-23 シグナルの伝達がオートクラインに進行することで IL-17 が産生されると考えた。また、IL-17 受容体の発現が炎症を起こした毛包細胞で特異的に得られることから、IL-17 は炎症反応の亢進に加えて毛包破壊にも関与していると推測した。

**P1-8.**

**表皮角化細胞の脱核には複数の経路が関与する—皮膚バリア機能形成における関与—**

(大学病院：皮膚科)

- 田中 (山本) 真実、坪井 良治
- (資生堂リサーチセンター)

日比野利彦

本研究は、アトピー性皮膚炎等の慢性炎症性皮膚疾患の病因となる皮膚バリア機能破綻の原因として、不全角化のメカニズムに注目した。表皮角化細胞の脱核のプロセスには複数の経路が関係しているのではないかと考え、顆粒層から角層における特異的な変化である caspase-14 の活性化とプロフィラゲリン N 末端 (FLG-N) の核移行について検証した。FLG-N は、ドメイン毎の発現ベクターを作製し、ケラチノサイトに発現させ、細胞の形態および核の変化を継時的に観察した。また、FLG-N に相互作用を示す物質を LC/MS/MS 解析にて検証した結果、表皮特異的メソトリプシンが FLG-N の遊離に働くこと、核内には約 55 kDa の大きさで入り、A ドメインが核分解に寄与することが確認できた。さらに、caspase-14 については、ICAD (Inhibitor of CAD) を限定分解することで CAD (Caspase-activated