

関節腫脹がみられ、腎臓と皮膚にも1例ずつ病変がみられた。血清可溶性IL-2受容体の平均値は1041.4 U/ml、アンジオテンシンI転換酵素(ACE)の平均値は20.8 IU/mlであった。治療は1例のみ経過観察とし、10例はステロイド全身投与によって症状の軽快が得られた。

【結論】サルコイドーシスは眼窩病変の出現を契機に診断に至ることがある。診断の確定には生検が必要であるが、眼窩の占拠性病変の鑑別疾患としてサルコイドーシスも念頭に置く必要がある。

3-1.

加齢に伴い誘導される Gas6/Axl シグナルによるウイルス感染症の重症化

(大学院修士課程2年微生物学分野)

○呉 優貴恵

(医学部医学科4年)

茂木 優介、東郷 一真

(医学部医学科5年)

近藤庄太郎、大脇 恵人

(大学：微生物学分野)

中村 茂樹、柴田 岳彦

高齢者は加齢に伴う免疫機能の低下や異常により感染症が重症化しやすい。しかし、具体的な重症化機構はほとんどわかっていない。これまでに我々は、若齢マウスにおいてウイルス感染により誘導される growth arrest-specific protein 6 (Gas6) がその受容体である Axl を介して免疫応答を抑制し、感染症を重症化させることを明らかにした。また最近、若齢者と比較して高齢者の血中 Gas6 濃度が高いことを見出した。そこで本研究では、加齢に伴う Gas6 レベルの上昇とウイルス感染症の重症化の関連性と Gas6 誘導機構の解明を目的とした。

ヒト同様に、若齢マウス(8週齢)よりも老齢(70-74週齢)において Gas6 レベルが高かった。インフルエンザウイルス(IAV)を経鼻感染させると、若齢マウスよりも老齢マウスにおいて生存率が低下した。また、老齢マウスにおいて、感染初期では炎症性サイトカインあるいはIFN- β の発現量が低下し、反対に、感染後期ではウイルス量が増加し、炎症性サイトカインが多量に産生された。次に、IAVを感染させた老齢マウスにBGB324(Axl阻害剤)を

腹腔投与したところ、感染初期の免疫応答の亢進、生存率の回復が認められた。最後に、老齢マウスでは細胞老化マーカーである p16 を高発現する気道上皮細胞が Gas6 を高発現することを見出した。そこで、別の細胞老化マーカーである p53 の阻害剤で老化細胞を処理したところ、Gas6 の発現が抑制された。すなわち、上皮細胞の細胞老化に伴い Gas6 が誘導されることが示唆された。

以上の結果より、加齢に伴い生じる老化細胞が Gas6 を産生し、Gas6/Axl シグナルによる免疫応答の抑制が感染症の重症化をまねくことが示唆された。本研究の成果は、Gas6/Axl をターゲットにした感染症の重症化予防や治療法の開発につながることを期待される。

3-2.

miRNA を用いた肺アスペルギルス症に対する新規核酸医薬品の開発

(大学院修士課程2年微生物学分野)

○渡邊 陸人

(大学：微生物学分野)

犬飼 達也、中村 茂樹

マイクロRNA(miRNA)は21~25塩基長の1本鎖RNAであり真核生物において遺伝子の転写発現調節に関与し、ヒトではこれまでに約2700種類のmiRNAが発見されている。ヒトと同じ真核生物である真菌においてもmiRNAによる発現調節機構が備わっている可能性は十分に予想されるが、これまでに報告はなされていない。miRNA自体は、ヒトにも存在する化合物であるため既存薬を使用することによる相互作用の問題や強い副作用を回避できるメリットがあると可能性が考えられる。今回我々は、既存抗真菌薬が有する相互作用や強い毒性の問題を回避するために、肺アスペルギルス症の新規治療戦略として、生体が本来保有しているmiRNAを用いた核酸医薬品の開発を目的とし、miRNAが*Aspergillus fumigatus*の病原性に及ぼす影響を評価した。

miRNAデータベースの中から、酸化ストレス耐性に関与するメラニン合成遺伝子 alb1 と相同性の高いmiRNAを2種類用意し、AfS35株にそれぞれ導入した。その後、RNA及び総蛋白質を抽出し、標的分子の発現量の変化をRT-PCR、ウエスタンブ

ロット法で評価した。miRNA 導入後に回収した分生子の酸化ストレス耐性を H₂O₂ 処理後の CFU で評価した。

miRNA 未導入株と比較し、導入株では、12 時間後の alb1 発現量が 2 倍減少した。また、Alb1 に HA-tag を融合した株を用いて評価した Alb1HAp タンパク質の発現量は 3 倍減少した。miRNA 導入後に回収した分生子は、H₂O₂ ストレスにより CFU が約 25% 減少した。以上の結果より、本菌において、ヒト miRNA の導入によって標的 mRNA の分解や翻訳制御が行われ、病原性が低下する可能性が示唆された。現在、アスペルギルス菌体内に miRNA を効率的に導入できるドラッグデリバリーシステムを構築中である。

3-3.

不死化ヒト脱落乳歯歯髄幹細胞の培養上清による Wnt シグナル伝達の抑制を介したメラニン生成の阻害

(大学院修士課程 2 年東京医科大学)

○関根 碧水

(医学総合研究所：免疫制御学教室)

関根 碧水、園田寿希心、山岸 美宇
渡邊 有麻、片平 泰弘、溝口 出
善本 隆之

メラニン紫外線から皮膚を保護する重要な役割を果たすが、過剰なメラニンは皮膚の色素沈着過剰を引き起こす。メラニンは、小眼球症関連転写因子 (MITF) の標的であるチロシナーゼ (TYR) および TYR 関連蛋白質 1/2 (TRP1/2) によって制御される酵素カスケードを介してチロシンから合成される。これまでに、古典的な Wnt シグナルの 1 つである Wnt3a は、MITF、TYR および TRP1 の上方制御を通じてメラノサイトのメラニン形成の促進に寄与する一方、非古典的な Wnt シグナルの 1 つである Wnt5a はメラニン形成を阻害することが明らかになっている。そこで、本研究では、マウス黒色腫細胞株 B16F10 を用いて、ヒト脱落乳歯歯髄幹細胞に不死化遺伝子を導入して株化した細胞の培養上清 (SHED-CM) のメラニン生成の阻害効果とその分子機序について検討した。興味深いことに、ウエスタンブロット解析により、SHED-CM には、Wnt3a

は殆ど含まれなかったが、Wnt5a などの様々なサイトカインや増殖因子などが含まれていた。次に、B16F10 細胞を SHED-CM 存在下で培養すると、B16F10 細胞の黒色度の低下と、それに相関して、メラニン含有量とチロシナーゼ活性が用量依存的に有意に減少した。これらの結果と一致して、RT-qPCR 解析により、MITF、TRP1、TYR、および β-カテニンなどの Wnt シグナル伝達に参与する分子の mRNA 発現が SHED-CM により減少した。現在、この SHED-CM による B16F10 細胞のメラニン形成阻害効果が、siRNA を用いた Wnt5a の特異的なノックダウンによって打ち消されるか、また、SHED-CM 中には他にも様々な因子が含まれているので、それら他の因子が関与しているのかを明らかにするため、種々の因子の siRNA によるノックダウンの実験を進行中である。

3-4.

PD-1-mediated suppression of CAR-T cells via CAR signalosomes colocalized by PD-1

(大学院博士課程 2 年腎臓内科学分野)

○吉田 洋輔

(免疫学教室)

町山 裕亮、若松 英、竹内 新
西嶋 仁、豊田 博子、古畑 昌枝
横須賀 忠

(皮膚科)

西川 哲史

(熊本大学呼吸器外科)

松島 遼平

The combination of chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy with immune checkpoint blockade (ICB) using anti-PD-1 enhances the anti-tumor responses of CAR-T cells. Although we reported that PD-1 suppresses T cell activation via its binding to PD-L1 with the recruitment of SHP2 in primary T cells, the details remain unclear in CAR-T cells. To address this issue, we therefore investigated a molecular mechanism of PD-1-mediated CAR-T cell suppression from the viewpoint of signalosome identified by real-time single-molecule imaging in living cells. By binding to hCD19, hCD19-CAR aggregates to form "CAR microclusters", which