

酸素産生、脱顆粒においては強力な因子の一つである。しかし PAF の肺線維芽細胞に対する作用については明らかにされていない。そこで、肺線維芽細胞の eotaxin 産生及び接着分子の発現に対する PAF の影響について検討した。

【方法】 ヒト胎児肺線維芽細胞 (HFL-1) を IL-4、PAF、あるいは IL-4+PAF、存在下にて 48 時間培養した。Eotaxin は上清を回収し ELISA kit にて測定した。接着分子は、HFL-1 を剥離し採取後、FITC 標識抗体 anti-ICAM-1 mAb あるいは anti-VCAM-1 mAb を添加後、FACSCalibur cytometer にて解析した。

【成績】 ヒト胎児肺線維芽細胞 (HFL-1) の eotaxin 産生において、IL-4 とともに PAF を添加すると、IL-4 単独に比べ産生は増強した。また IL-4 存在下で PAF は eotaxin 産生を濃度依存性に増強した。接着分子の発現では、ICAM-1 発現はいずれも増強を示さなかった。しかし VCAM-1 発現において、IL-4 とともに PAF を添加すると IL-4 単独に比べ発現は増強した。また、PAF 拮抗薬はそれぞれの増強効果を抑制した。

【結論】 PAF が IL-4 存在下で肺線維芽細胞からの eotaxin 産生、VCAM-1 発現を増強することを示した。eotaxin、VCAM-1 とともに好酸球の局所への選択的浸潤に関係する重要な因子であり、T helper cell (Th) 2 サイトカイン優位である気管支喘息のアレルギー性炎症において、PAF が肺線維芽細胞への作用を介して、好酸球の気道局所への浸潤に影響している可能性を示唆する。

PA-5.

vogt-小柳-原田病患者血清中 IgG 抗体が認識する自己抗原の同定

(大学院単位取得・眼科学専攻)

○大谷 壮志

【目的】 Vogt-小柳-原田病 (VKH 病) は、ぶどう膜等の色素細胞を多く含む組織が障害され、色素細胞に対する自己免疫疾患と考えられている。今回我々は、cDNA 発現クローニング法を用い、VKH 病患者血清中 IgG 抗体が認識する自己抗原の単離を試みた。

【方法】 高色素産生悪性黒色腫細胞株 SKmel23 と培養色素細胞からラムダファージ cDNA ライブラリーを作製し、VKH 病患者 11 人の血清を大腸菌発現タンパクに反応させ、抗ヒト IgG 抗体と酵素抗体発色法を

用いて、患者血清 IgG が認識する抗原遺伝子を単離・解析した。さらに、VKH 病 35 例、健常人 30 例の血清を用いて、単離抗原に対する IgG 抗体の存在を検討した。

【結果】 VKH 病患者 11 人の血清を用い、約 4×10^6 の cDNA プラークをスクリーニングして、約 200 個の陽性クローンを単離した。このうちの一つ KU-MEL-1 は、以前、我々が SEREX 法と DNA チップ法で単離した悪性黒色腫抗原であり、色素細胞選択的な発現を示す分子であった。そこで、VKH 病患者血清における抗 KU-MEL-1 抗体を調べたところ、35 例中 22 例に IgG 抗体が検出された。健常人血清 30 例には、検出されなかった。

【考察】 VKH 病は HLA-DR*0405 と非常に強い相関があり、色素細胞に対する自己免疫反応における MHC class II 拘束性 CD4+T 細胞の関与が示唆されている。IgG 抗体が認識する抗原に対しては CD4+T 細胞が活性化されている可能性が強く、色素細胞選択的な発現を示し、VKH 病で IgG 抗体が検出される KU-MEL-1 は VKH 病の病態形成に関わる可能性がある。

PA-6.

筋・神経生検にて小血管のフィブリノイド型血管炎を認めた塵(じん)肺併発 MPO-ANCA 関連血管炎の 1 例

(八王子・腎臓内科)

○高良 洋平、吉田 雅治、吉川 憲子
渡邊 妙子、中林 巖、明石 真和

(八王子・病理診断部)

望月 眞

【症例】 74 歳男性。42 年間空調整備に携わり、69 歳時に塵肺症を診断された。2004 年 6 月より 38°C 台の発熱、倦怠感が出現し持続。その後右下肢浮腫も認め近医にて抗生剤、利尿剤を処方された。約 2 週間後に右腹部に帯状疱疹出現、1ヶ月で 5 kg の体重減少を認め、尿蛋白 (1+)、潜血 (2+)、炎症反応持続 (CRP4-5 mg/dl)、MPO-ANCA 538EU と高値を認めたため ANCA 関連血管炎 (AAV) 疑いにて 8 月入院となった。しかし、入院後解熱、尿所見の正常化を認め、腎生検でも血管炎所見を認めなかったため治療の適応が問題となったが、下肢の感覚障害を認め、感覚・運動両方の神経伝導速度の低下を認めたため腓腹神

経・筋生検を施行。細小動脈のフィブリノイド壊死を認め顕微鏡的多発動脈炎と診断し PSL 30 mg、azathioprine 50 mg より治療を開始した。

【考察】塵肺と AAV の関連は良く知られた事実であり、Si 含有物質への暴露自体が ANCA 陽性率を上げるが、多くが全身性血管炎には至らない。本症例の先行肺疾患（塵肺）と MPO-ANCA 関連血管炎の臨床像、血管炎病理分布の関係につき考察を加えて報告する。

PA-7.

1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 と vitamin K2 との併用による白血病細胞の分化誘導並びに cytoplasmic p21CIP1 を介したアポトーシス耐性の獲得

(内科学第一)

○井口 具隆、宮澤 啓介、大屋敷一馬

Vitamin K2 (VK2: menaquinone-4) は白血病細胞のアポトーシスを効率よく選択的に誘導することが報告されてきている。臨床的にも急性白血病での有効例が報告されている。一方、VK2 と 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 (以下 D3) との併用投与は、骨髄異形成症候群において血球減少の改善に有用であるとする報告もある。しかし、現在 VK2 と D3 が導く腫瘍細胞のアポトーシス、分化の機序に関しては不明な点が多い。本研究では、VK2 と D3 との効果を中心にアポトーシス、分化の分子制御の解明を試みた。

白血病細胞株 HL-60、U937 に対して VK2、D3 を添加すると、VK2 単独ではアポトーシスが誘導され、D3 単独では細胞分化が誘導された。両者併用ではより強い細胞分化ならびに抗アポトーシス効果が確認された。Western Blotting 法にて p21CIP1、p27KIP1、JNK1、JNK2、phospho-JNK1/2 を含む各種アポトーシス関連蛋白の発現量を測定した。JNK1、JNK2、phospho-JNK1/2 は VK2 によるアポトーシス誘導で増加し、VK2 と D3 併用による分化誘導では VK2 単独に比して減少した。蛍光抗体法で p21CIP1 の細胞内局在を確認したところ、VK2 単独では核内に局在化するのに対し、VK2 と D3 併用では原形質に移行した。また JNK pathway の上流として、酸化ストレスによる活性酸素の誘導があり、Flow cytometry を用いて活性酸素種の増加を確認した。p21CIP1 は原形質において、JNK の

上流に位置する ASK1 を阻害することで抗アポトーシス効果を導くため、以上の結果から VK2 によるアポトーシス誘導、VK2 と D3 併用による細胞分化、アポトーシス耐性の獲得は p21-JNK pathway を介して行われることが確認された。

本研究は平成 16 年度東京医科大学助成金にて行いました。

PA-8.

炭疽菌毒素に対する受動免疫の研究

(外科学第三)

○粕谷 和彦、青木 達哉

【背景】炭疽は炭疽菌の感染により起こる。承認されているワクチンは菌への暴露の約 6ヶ月前に複数回の投与を要する能動免疫のみである。炭疽菌の病原因子は外毒素である。また外毒素を宿主細胞内に運ぶための防御抗原を持ち、防御抗原の作用を抑えることで発症予防される。

【目的】中和抗体を産生するウイルスベクターを作成し、感染後に投与可能な受動免疫ワクチンを開発する。

【方法】ベクターの作成：1) 炭疽菌の防御抗原に対する中和抗体の可変領域のアミノ酸配列から cDNA 配列を合成し、5'-にマウス Ig のシグナル配列を、-3'にヒト Ig κ の constant domain をつなぎ、分泌型とした。同配列をアデノウイルス Ad5 に組み込みこんだ (Adenovirus producing anti-Protective Antigen single chain Antibody; Ad-aPAscAb)。2) 炭疽菌毒素の蛋白の作成：外毒素の cDNA を組み替え大腸菌発現プラスミドに組み込み、カラム精製を行った。3) 防御抗原のレセプターを持つマウス細胞を用い、外毒素と免疫マウスの血清を混合暴露し、血清の中和能を判定した。4) 免疫マウスに致死量の外毒素を投与し、生存を確認した。

【結果】

- アデノウイルス (Ad-aPAscAb) は中和抗体を分泌した。
- 免疫マウスの血清はベクター投与後、1 日目から約 2 週間抗体を分泌した。
- 免疫マウスは致死量の炭疽菌毒素の投与に対し、毒素を中和した。

【考察】感染症に対する能動免疫は強力であるが、免