

PC-52.**マウス実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎におけるケモカインレセプターCCR5の役割**

(眼科学)

○竹内 礼、白井 嘉彦、竹内 大

鈴木 潤、毛塚 剛司、白井 正彦

(東京大学大学院医学研究科分子予防医学教室)

灰野 誠、松島 綱治

【目的】 ベーチェット病、サルコイドーシスなどのヒト内因性ぶどう膜炎、およびその動物モデルである実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (以下、EAU と略す) では、タイプ1ヘルパーT細胞 (以下、Th1細胞と略す) がその発症に中心的な働きを示すことが知られている。CCR5はTh1細胞に発現するケモカインレセプターであり、Th1細胞の炎症局所への遊走に関与する。今回我々は、CCR5を阻害することによりEAUが軽症化するか否かについて検討を行った。

【方法】 ヒトIRBPアミノ酸残基1から20位より合成されたペプチド (hIRBP-p) 200 mgを結核菌死菌を増量させた完全フロインドアジュバンド、および生トキシントとも正常B6マウス (wild type)、およびCCR5ノックアウトマウスに免疫した。免疫後21日目にマウスを屠殺し、EAUの重症度を病理組織学的に検討した。また、同時に脾細胞、所属リンパ節細胞を摘出し、*in vitro*でhIRBP-pで刺激することにより、その抗原特異的T細胞増殖反応、およびIL-6、IL-10、IL-12、IFN- γ 、TNF- α 、MCP-1産生を測定した。

【結果】 CCR5ノックアウトマウスにおいてもEAUが発症し、Wild typeマウスと比較して、臨床的、組織学的に統計学的優位差は認められなかった。CCR5ノックアウトマウスにおけるT細胞増殖反応、IL-6産生は脾臓で増強していたが、そのTNF- α 、IFN- γ 産生は眼周囲リンパ節で減弱していた。Wild type、CCR5ノックアウトマウスの脾臓、眼周囲リンパ節における優位なIL-10産生はみられなかった。

【考按】 CCR5ノックアウトマウスにおいてもhIRBP-pの免疫によりEAUの発症が認められたことにより、CXCR3などの他のケモカインレセプターの関与が示唆された。しかし、CCR5ノックアウトマウスではWild typeと比較して脾臓ではT細胞増殖反応が増加、同程度のIFN- γ 産生がみられたにもかかわらず、眼周囲リンパ節では同程度のT細胞増殖反

応、そしてIFN- γ 産生が減少していたことから、EAUの軽症化はみられなかったが、Th1細胞の眼への遊走が抑制されていたと考えられた。

PC-53.**インターフェロン β (IFN- β) 誘導性アポトーシスにおけるc-Jun N terminal kinase 1 (JNK1) の役割**

(免疫学)

○高田 栄子、下 邦明、秦 喜久美

水口純一郎

【目的】 Type I インターフェロン (IFN- α/β) は、B細胞の成熟、分化に必要な増殖抑制やアポトーシスなどの反応を誘導することが知られている。今回、IFN- β 刺激によりアポトーシスが誘導されるマウス未成熟B細胞株CH31を用いて、アポトーシス誘導におけるJNK1の役割について検討した。

【方法】 CH31に優性阻害型JNK1 (dnJNK1) もしくは活性型JNK1 (MKK7-JNK1) を発現させた細胞を作製した。アポトーシスはミトコンドリア膜電位とPI染色で、蛋白質の発現はフローサイトメトリー、免疫染色、ウエスタンブロット、RT-PCRで測定した。キナーゼ活性は*in vitro* kinase assay もしくはリン酸化部位特異抗体を用いたウエスタンブロットで測定した。カスパーゼ活性は測定キットを用いた。

【結果】 CH31をIFN- β で刺激するとミトコンドリア膜電位の低下とアポトーシスが誘導された。アポトーシスの誘導に伴い、CD95の発現が増加した。IFN- β 刺激によりJNK1が活性化するので、アポトーシス誘導におけるJNK1の役割を明らかにするために、dnJNK1とMKK7-JNK1発現細胞をIFN- β で刺激すると、dnJNK1細胞ではアポトーシス、CD95の発現が抑制され、MKK7-JNK1細胞ではアポトーシス、CD95の発現が増加した。CD95のシグナル伝達系について調べると、IFN- β 刺激によりcFLIPの発現が低下し、カスパーゼ8が活性化した。以上のことから、B細胞をIFN- β で刺激すると、JNK1の活性化によりCD95発現増加とcFLIPの発現低下が誘導され、CD95/CD95L経路によってカスパーゼ8の活性化、アポトーシスが誘導されると考えられる。