

に抑制し、その際 TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand) と TLR3 発現を誘導し、この IL-27 による増殖抑制が TRAIL に対する中和抗体でキャンセルされることを見出した。さらに、IL-27 と Poly (I: C) を同時に加えると、より強く TRAIL と TLR3 発現が増強され、腫瘍増殖も強く抑制された。この時、この増殖抑制も TRAIL に対する中和抗体でキャンセルされることより TRAIL 依存的であることがわかった。

以上のことより、IL-27 は、ヒトメラノーマ腫瘍に TRAIL と TLR3 発現を誘導し、さらに、TLR3 のアゴニストである Poly (I: C) と協調的にこれらの発現を増強し、TRAIL 依存的に腫瘍増殖を抑制することが明らかになった。IL-27 のがんに対する治療薬としての応用の可能性が期待される。

3. 進行卵巣癌での抗原特異的な細胞性免疫反応と悪性度の関連

(人体病理学講座)

佐藤 永一、永井 毅、長尾 俊孝
(産科婦人科学講座) 井坂 恵一
(Ludwig Institute for Cancer Research) Gerd Ritter
(Gynecologic Oncology, Roswell Park Cancer Institute)

Kunle Odunsi

【背景】 原発巣に tumor infiltrating lymphocytes (TILs) が多数浸潤している癌では、患者の生命予後が良好であることが種々の癌腫で示されている。我々もまた卵巣癌で原発巣内に CD8 陽性 TILs が豊富な症例は予後が良好であることを示し、一方でその効果は局所に浸潤する regulatory T cells が多い症例では抑制されることを示してきた。また膀胱癌でも CD8 陽性 TILs の多寡は予後と相関しており、腫瘍細胞による HLA class I 発現率と CD8 陽性 TILs の浸潤が相関していることを示してきた。

【目的および方法】 自然発生癌局所での細胞傷害性免疫反応の生物学的な意義をより詳細に解析することを目的とした。検討の対象は Roswell Park Cancer Institute (87 例)、東京医科大学病院 (101 例) の合計 188 例の卵巣癌で、手術により切除された表層上皮性・間質性卵巣癌の組織標本を用いた。原発巣内での CD8 陽性 TILs と CD1a 陽性樹状細胞の浸潤、腫瘍細胞による HLA class I と代表的な腫瘍精巢抗原である NY-ESO-1 の発現を免疫組織化学での検索項目とし、臨床病理学的因子との相関を統計的に検討した。

【結果】 漿液性腺癌では CD8 陽性 TILs が多い群の生存期間が、CD8 陽性 TILs が少ない群よりも長かった。ただし他の組織型では CD8 陽性 TILs の多寡と予後との相関は明らかでなかった。また、進行期 III 期以上に進行した漿液性腺癌では CD8 陽性 TILs が多い群の生存期間がより長いものの、進行期 I 期・II 期の比較的早期の漿液性腺癌では、CD8 陽

性 TILs の浸潤数と生存期間の関連があるとは言えなかった。III 期以上に進行した漿液性腺癌では、腫瘍細胞が NY-ESO-1 や HLA class I を発現する群、あるいは CD1a 陽性細胞がより多く浸潤している群では CD8 陽性 TILs が多い群の生存期間が有意差を持って延長していた。ただし腫瘍細胞に NY-ESO-1 や HLA class I の発現が見られない群、CD1a 陽性細胞の浸潤が乏しい群では、CD8 陽性 TILs の多寡と予後との相関は確認されなかった。

【考察・結語】 Tumor escape が成立していると考えられる進行癌であっても抗原特異的な免疫反応が存在しており、癌の生物学的な振る舞いに影響を与えているものと考えられた。

4. 気管支喘息発症における ASK1 の関与

(免疫学講座) 高田 栄子、古畑 昌枝、水口純一郎
(動物実験センター) 須藤カツ子

【目的】 喘息の発症には Th1, Th2, Th17 などの T 細胞サブセットが重要な役割を果たしていると言われている。一方、MAPK (mitogen-activated protein kinase) ファミリーに属する ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1) は JNK (Jun N-terminal kinase) の上流に位置し、炎症反応に関与していることが報告されている。我々は ASK1 が OVA 誘導性気管支喘息の発症に関与しているか否か ASK1 遺伝子欠損マウスを用いて検討した。

【方法】 野生型および ASK1 欠損型の 8~12 週令メス C57BL/6J マウスを用いた。気管支喘息は 10 µg OVA を 7 回腹腔内投与し、3 週間後に 200 µg OVA を 3 回点鼻して誘導し、最終点鼻 24 時間後に実験を行った。TNF-α による喘息は 3 回もしくは 4 週間 TNF-α を点鼻して誘導した。組織学的解析は肺の HE 染色と PAS 染色を行った。気管支肺泡洗浄液 (BALF) の細胞数および細胞の種類はシスメックス社の多項目自動血球分析装置で測定した。気道過敏反応は BUXCO 社の測定装置で計測した。サイトカインは Meso Scale Discovery 社の SECTOR Imager と酵素抗体法で、血清中の OVA 特異的免疫グロブリンは酵素抗体法で測定した。

【結果】 ASK1 欠損マウスでは OVA による気道過敏反応と肺の炎症が抑制され、BALF 中の炎症細胞数および好酸球数の減少と血清中の IgE の低下が見られ、気管支喘息の発症が抑制された。さらに BALF 中の TNF-α 濃度が低下し、TNF-α 産生細胞の割合が減少していた。また、脾臓細胞の OVA に対する反応性に差は認められなかったが、所属リンパ節細胞の OVA に対する反応性は低下していた。一方、TNF-α 誘導性気道過敏反応では野生型と ASK1 欠損マウスとの間に差は見られなかった。また BALF 中の炎症細胞数の差も認められず、好酸球は両方のマウスで誘導されなかった。したがって、TNF-α に対する反応性に差はないと示唆

された。しかし、OVAにTNF- α を添加して喘息を誘導してもASK1欠損マウスの炎症細胞数と好酸球数はOVA単独よりもTNF- α 添加の方が高値を示したが、気道過敏反応と同様、野生型のレベルより低値であった。

【結論】 ASK1欠損マウスではOVA誘導性気管支喘息の発症が抑制され、TNF- α の低下とTNF- α 産生細胞が減少することから、ASK1は気管支喘息の発症にTNF- α の産生を介して関与すると示唆された。

5. アトピー性皮膚炎治療に向けた抗NF- κ B siRNA含有セリシゲル製剤の開発

(東京薬大・薬) 金沢 貴憲、志澤 由紀、武内 麻由
玉野くに子、遠藤 隆博、高島 由季
瀬田 康生、岡田 弘晃
(キッセイ薬品工業) 西田 渉、山田 昌樹

【目的】 我々はこれまで、NF- κ BのサブユニットであるRelAに対するsiRNA (siRelA)をアトピー性皮膚炎(AD)モデルマウスに投与することで症状が改善すること、また、細胞透過性ペプチドであるTat誘導体やタイトジャンクション開口作用をもつAT1002ペプチドを併用することで、siRNAの皮内透過性が向上することを報告している。本研究では、皮膚塗布型のsiRelA製剤の開発を目的とし、創傷治療のドレッシングや細胞増殖の足場として医薬分野への応用が期待されている、絹タンパク質の構成成分であるセリシン(SC)を基剤としたsiRelA/Tat+AT1002含有SCゲル製剤を新たに調製し、siRNAの放出特性、皮内送達性、AD治療効果について評価した。

【方法】 1%SC水分散液から加熱処理により抽出したSC溶液にsiRNA/Tat+AT1002溶液を加えゲル化することで、siRelA/Tat+AT1002含有SCゲル製剤を得た。ゲル製剤からのsiRNA放出性は、蛍光標識したsiRNA (FAMsiRNA)を用い、トランスウェル上部に製剤を、下部に600 μ LのPBS (pH 7.4)を加え、PBS中に放出されたFAMsiRNAの蛍光強度を経時的に測定することにより評価した。次に、テープストリッピングにより角質を除去したICRマウスの背部にFAMsiRNA含有SCゲル製剤を塗布し、一定時間後の皮膚組織中のFAMsiRNAを共焦点顕微鏡により観察することで皮内へのsiRNA送達性を評価した。同様の方法で、2,4-Dinitrofluorobenzene (DNFB)をハプテンとして用い、AD症状を局所的に誘発させたNC/Ngaマウスの耳介皮膚においてもsiRNA送達性を評価した。さらに、AD症状を発症させたNC/Ngaマウスの左耳をsiRNA含有SCゲル製剤で治療した際の治療効果について測定した。

【結果・考察】 siRNAはSCゲル製剤から速やかな放出性を示した。また、FAMsiRNA含有SCゲル製剤は、高い皮内送達性を示した。さらに、siRelA含有SCゲル製剤は、siRe-

IA溶液、およびSCゲル単独投与に比べ皮膚炎による耳の肥厚および臨床スコアを有意に抑制した。以上のことから、siRelA/Tat+AT1002含有SCゲル製剤はアトピー性皮膚炎の新規治療薬として極めて有用であることが示唆された。

6. AICAR (Aminoimidazole carboxamide ribonucleotide) による実験的自己免疫ぶどう膜炎の抑制

(東京医科大学眼科学講座) 鈴木 潤、後藤 浩
(マサチューセッツ眼科耳鼻科病院)

Sobrin Lucia, Miller Joan, Vavvas Demetrios

【目的】 細胞のエネルギー代謝に関わるAMPKinaseは炎症反応にも関与していることが報告されている。そこでAMPkinaseの刺激薬、AICAR (aminoimidazolecarboxamide ribonucleotide)を用いて、ぶどう膜炎の動物モデルである実験的自己免疫ぶどう膜炎(EAU)が抑制されるかどうか検討した。

【方法】 EAUはC57/BL6マウスに網膜抗原(IRBP)を免疫して誘導し、AICAR200 mg/kgを免疫日より連日腹腔内に投与した。3週間後に臨床所見と病理所見によりEAUの重症度を比較し、リンパ球を用いて抗原刺激に対する増殖反応、サイトカイン産生量を測定した。また骨髄由来樹状細胞(BMDC)を用いて、AICARがDCの活性化に影響するか検討した。

【結果】 PBSを投与されたコントロール群に比べ、AICAR治療群ではEAUは有意に抑制されていた。またリンパ球増殖反応や発症に関与するIFN- γ 、IL-17の産生はAICAR治療群で有意に低下していた。骨髄由来樹状細胞(BMDC)を用いて検討を行ったところ、LPS刺激後にみられる補助刺激分子の発現や炎症性サイトカインの産生はAICARを同時に添加したBMDCでは認められず、AICARはDCの活性化を抑制していた。またこのBMDCとEAUマウスから分離したCD4リンパ球を共培養したところ、AICAR処置DCは未処置DCに比べ、CD4リンパ球からのIFN- γ とIL-17の産生を抑制した。

【結論】 AICARはEAUの発症を抑制し、その機序として樹状細胞の活性化抑制が関与していることが示唆された。

7. 低酸素環境下でのがん細胞由来 exosomal miRNA が関与する血管新生への影響

(東京薬科大学 大学院 薬学研究科) 田所 弘子
(東京医科大学 先端分子探索寄附講座) 梅津 知宏
(医学総合研究所) 大屋敷純子
(内科学第一講座) 大屋敷一馬

【背景】 最近の研究において、分泌小胞であるエクソソームに封入されて細胞外へ放出される分泌型miRNA (exosomal miRNA)の存在が示され、これらが関与する細胞間の情報