
 一般演題：P1-1~P1-17, P2-18~P2-33, P3-34~P3-51

 一般演題

P1-1.
Foxp3⁺ 制御性 T 細胞を介したテトラクロロダイオキシン類投与による実験的自己免疫性ぶどう膜炎の抑制

(大学院三年・眼科学)

○張 丽娜

(眼科学)

馬 娟、竹内 大、山川 直之

白井 嘉彦、服部 貴明、奥貫 陽子

毛塚 剛司、後藤 浩

(病理学)

黒田 雅彦

アリアル炭化水素レセプター (AHR) には制御性 T 細胞 (Treg) と Th17 細胞への分化を調節する作用があることがマウスにおいて証明され、その結合物である 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシン (TCDD) は、機能的に Treg 分化を引き起こす。今回我々は、ヒト自己免疫性ぶどう膜炎の動物モデルである実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (EAU) を用いて、AHR を介した TCDD の抗炎症作用について検討を行った。EAU を惹起するためにヒト網膜光受容体間レチノイド結合タンパクペプチド (hIRBP-p) を C57BL/6 マウスに強化免疫し、その 1 日前に TCDD を腹腔内投与した。TCDD 投与は、脾臓における Foxp3⁺ Treg を増加させ、hIRBP-p 免疫との併用はさらにそれらのリンパ節での増加を促した。EAU の発症は TCDD 投与により完全に抑制され、その抑制は TCDD 投与前に抗 CD25 mAb で処理することにより解除された。TCDD 投与後に hIRBP-p で免疫されたマウスのリンパ節細胞および脾細胞は、hIRBP-p 刺激に対して IFN- γ と IL-17 を産生することができず、抗 CD3mAb 刺激でも IFN- γ と特に IL-17 産生は抑制されていた。しかし、本プロトコールによる TCDD の 1 回投与では抗 CD3 mAb 刺激に対する IL-10 産生および T 細胞増殖反応に抑制はみられなかった。

TCDD には毒物としての作用も知られ、臨床応用に関しては慎重な検討が必要であるが、全身の免疫系を抑制することなく、ぶどう膜炎の発症を強力に抑制することが示された。

P1-2.
HSP70、および HSP40 family members による細胞障害保護効果について

(免疫学)

○浅倉 英樹、豊田 博子、水口純一郎

熱ショック蛋白質 (Heat shock proteins, HSPs) は、各種の細胞ストレスにより発現誘導され、分子シャペロンとして細胞の保護に働く。多くの場合 HSP70 が主シャペロンとして機能し、その活性制御に HSP40family のメンバーがコシャペロンとして働くとされており、従来、HSP40 のコシャペロン活性は subfamily B のメンバー 1 (HSP40-2) について報告されてきている。

今回、この HSP40 とアミノ酸配列レベルの相違が 62.3% とかなり異なる HSP40subfamily B のメンバー 4 (HSP40-1) 遺伝子をクローニングし、HSP70 と HSP40subfamily の両メンバー間との相互作用を免疫沈降法により比較検討した。

また、WEHI231 B リンパ腫細胞株を使い HSP70、および HSP40s を発現させたトランスフェクタントを作成し、これらトランスフェクタントに細胞ストレスとして抗 IgM、シスプラチン、および血清飢餓を用いて、HSP(s) 強制発現による細胞ストレス感受性への寄与を調べたので、それらの結果を報告する。

免疫沈降で比較した相互作用は、アミノ酸配列レベルのかなりの相違にも関わらず HSP40-1 と HSP40-2 の HSP70 との相互作用はほぼ同程度であった。HSP40 分子のドメイン欠損変異体の解析から、N 末側にあり HSP70 のシャペロン活性に必要な ATPase 活性促進に働くとされる J ドメインを欠損しても

HSP70 との相互作用に影響がなかった。細胞ストレス感受性は、HSP70、および HSP40 のトランスフェクタントで低下を示し、特に抗 IgM 刺激による細胞ストレスに対し耐性化傾向を認めた。

P1-3.

定量免疫電顕法によるマウス小腸リゾチーム産生細胞の分泌顆粒内抗原量の比較について

(組織・神経解剖学)

○佐藤 亨、白間 一彦、山田 仁三

(動物実験センター)

川本 英一

定量免疫電顕法では、金コロイド標識プローブを用いて目的物質の局在を明らかにするとともに、その標識率から抗原量を定量的に解析することができる。すなわち、単一細胞レベル、あるいは分泌顆粒1個単位に含まれる抗原量を相対的に数値化することは、個々の細胞の特徴や活性を比較する際に客観的な指標となる。今回は本手法を用いて、小腸陰窩底部に存在する3種類のリゾチーム産生細胞の同種細胞間や細胞種間における分泌顆粒内抗原量の差、および抗原量と分泌顆粒の形状との相関性について解析した。

その結果、マウス小腸陰窩底部には、リゾチーム産生細胞として Paneth 細胞、中間細胞、granule goblet cell (以下、顆粒杯細胞と記す) が識別された。これら細胞の分泌顆粒は有芯性であり、リゾチームはその芯部分に限局する。これら3種類の細胞では、分泌顆粒面積に占める芯部分の面積比が大きいほど金コロイド標識率も高くなっており、標識率と芯部分の大きさには強い相関関係があった。つまり、芯部分の面積比が小さいほど抗原密度も低くなっていることを示していた。細胞種間の金コロイド標識率は、Paneth 細胞がもっとも高く、中間細胞はその1/2~1/3程度であった。顆粒杯細胞は中間細胞から分化・移行するとされているが、芯部分の大きさが徐々に矮小化してゆくとともに金コロイド標識率が減少し、Paneth 細胞の1/10程度になっていた。これらの傾向は、小腸各部位および加齢マウスにおいても同様であった。

P1-4.

白色脂肪細胞における容積感受性クロライドチャンネルの機能的発現と容積調節への関与

(細胞生理学)

○井上 華、小西 真人

細胞容積調節は動物細胞の生存にとって重要な基本的機能の一つである。細胞は浸透圧不均衡な環境におかれて膨張あるいは収縮したとしても、元の容積に戻る機構を備えている。容積感受性クロライドチャンネル (VSOR チャンネル) は様々な動物細胞において細胞膨張によって活性化され、容積調節機構を担うチャンネルとして報告されている。しかしながら脂肪細胞におけるその発現や機能については全くわかっていない。本研究では、白色脂肪細胞において VSOR チャンネルが発現しているかどうかを明らかにし、容積調節への関与について検討した。

マウス副精巣周囲脂肪組織よりコラゲナーゼ処理によって単離した白色脂肪細胞に、ホールセルボルテージクランプを行い電流を測定した。白色脂肪細胞を低浸透圧負荷により膨張させるとクロライド電流が活性化された。このクロライド電流は外向き整流性であり、強い脱分極電位で不活性化を示し、NPPB やグリベンクラミドによって抑制された。これらの電気生理学的・薬理的性質は、これまで他の細胞で報告されている VSOR チャンネルの性質と一致するものであったことから、白色脂肪細胞に VSOR チャンネルが発現していることが明らかとなった。次にこのチャンネルの白色脂肪細胞の容積調節への関与を検討するために、低浸透圧条件下で白色脂肪細胞の容積変化を観察した。低浸透圧刺激により脂肪細胞は一過性に膨張するが、その後元の容積に戻ることに、すなわち容積調節をすることがわかった。そしてこの容積調節が NPPB やグリベンクラミドによって抑制されたことから、白色脂肪細胞においても VSOR チャンネルが容積調節に関与していることが示唆された。