

研究会報告

第 81 回

東京医科大学・東京薬科大学
免疫アレルギー研究会

日 時：平成 21 年 5 月 18 日 (月)
午後 6 : 00 ~ 8 : 10

会 場：東京医科大学病院本館 6 階臨床講堂

当番世話人：東京医科大学免疫学講座

水口純一郎

東京医科大学外科学第三講座

青木 達哉

1. 免疫反応における ASK1 の役割

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

【目的】我々はマップキナーゼ (MAPKs) に属する c-Jun N-terminal kinase (JNK) が抗体産生、細胞増殖・細胞死、及びアレルギー反応の調節に関わっていることを明らかにしてきた。今回、JNK の上流因子である apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK-1) の免疫反応、細胞死、及びアレルギー反応などの誘発に及ぼす影響についてノックアウトマウスを用いて検討したので報告する。

【結果】ASK1 欠損マウスにおける卵白アルブミンによって誘導される気管支喘息はコントロールマウスに比べて抑制された。一方、卵白アルブミンに対する特異的 IgE 抗体産生は減少したが、IgG, IgG1, IgM 産生は減少傾向であるが有意差は認められなかった。また、ASK1 欠損 B マウスでは抗原受容体を介するシグナルによって誘導されるアポトーシスに対してやや抵抗性を示した。この機構を WEHI-231 B リンフォーマ細胞株を用いて詳細に検討したところ、B 細胞抗原受容体を介するアポトーシスには reactive oxygen species (ROS) 産生、ASK1 活性化、持続的な JNK 活性化、ミトコンドリア膜電位の低下が関わっていることが示された。

2. Caspase-14 は分化したケラチノサイトにおいてのみ
DNA 分解に働く

(皮膚科学) 山本 真実、坪井 良治
(資生堂リサーチセンター)

細井 純一、片桐 千華、日比野利彦

Caspase ファミリーはアポトーシスや炎症に関与するが、caspase-14 は、他の caspase と異なり表皮にのみに発現し、角化に関与すると考えられている。近年、caspase-14 がフィラグリン分解に関わるという報告があったが、その機能的役割は未だ十分に明らかになっていないといえない。

我々は以前、角化細胞から caspase-14 を精製し一次構造を決定することにより、活性化に必要な切断部位を同定した。この情報を元に、常時活性化型 caspase-14 を構築した。また、切断部位に対するポリクローナル抗体 (活性化 caspase-14 のみを特異的に認識) と、前駆体および活性化双方を認識する caspase-14 モノクローナル抗体を作製した。さらに、CMV プロモーターおよびインボルクリンプロモーターを用いた 2 種類の活性化型 caspase-14 発現ベクターを構築した。これらのベクターには、HA タグおよび蛍光蛋白アザミグリンを挿入し、免疫染色および live image での検出を可能とした。

CMV プロモーターによる活性化型 caspase-14 発現ベクターを増殖期のケラチノサイトに導入し、強制的に活性化 caspase-14 を発現させた場合、培養ケラチノサイトに形態学的な変化は認められなかった。アポトーシスを検出する TUNEL 染色でも陽性細胞は認められなかった。培養ケラチノサイトの経時変化を追ってみても、caspase-14 発現ベクター導入後 7 時間で活性化型 caspase-14 は発現し始めたが、導入されていないケラチノサイトと比較しても細胞動態に変化は認められなかった。一方、インボルクリンプロモーターでドライブされた活性化型 caspase-14 発現ベクターをケラチノサイトに導入し、コンフルエントまで培養した後、空気暴露および Ca^{2+} 添加による分化誘導をかけると、活性化型 caspase-14 発現細胞は TUNEL 陽性となり DNA 分解が起きていることが示唆された。また、これらの細胞は、個細胞角化に似た形態を示した。これらの結果により、これまで caspase-14 の核分解への関与は明らかではなかったが、表皮ケラチノサイトの最終分化において caspase-14 が DNA 分解に関与していることが明らかとなった。