

【結果】 MCNS 患者における PSL、MPSL および CyA の IC₅₀ 値は、健常者に比べて有意に高い値を示した。臨床における GC 応答性の違いによる IC₅₀ 値の有意な差はなかった。しかしながら GC 応答性群に比べて、GC 依存性あるいは抵抗性群の IC₅₀ 値が高い傾向がみられた。PSL、MPSL の IC₅₀ 値と LDL との間に、各々有意な正の相関がみられた。

【結語】 MCNS 患者の GC 応答性を、*in vitro* において評価しうる可能性が示唆された。今後は脂質異常と GC 応答性との関連について、より詳細な検討を行う予定である。

3. CTL 誘導アデノウイルスワクチンの免疫ルートがインフルエンザウイルスに対する感染防御に与える影響

(埼玉医大・微生物学)

須田 達也、赤塚 俊隆、松井 政則

(東京薬大・免疫学) 大野 尚仁

(埼玉医大・分子生物学)

川野 雅章、禾 泰壽

【目的】 我々は、インフルエンザウイルスに対する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導型ワクチンの開発を目標に、組み換えアデノウイルスによる CTL の誘導を検討している。本研究では、インフルエンザウイルス由来 M1 タンパク質を発現する組み換えアデノウイルスをさまざまな免疫ルートでマウスに免疫して、エピトープ特異的 CTL の誘導とウイルス感染防御効果を検討した。

【方法】 インフルエンザウイルス由来の M1 タンパク質を組み込んだ組み換えアデノウイルスを、5つのルート（腹腔投与：i.p、経鼻投与：i.n、筋肉内投与：i.m、静脈投与：i.v、皮下投与：footpad）で HLA-A2 トランスジェニックマウスまたは C57BL/6 マウスに免疫した。免疫 1 週間後、脾細胞または肺細胞を調整し抗原刺激して、CD8+IFN- γ + 細胞数をフローサイトメトリーで測定した。さらに、ペプチドでパルスし CFSE でラベルした標的細胞を、免疫したマウスに移入し、killing 活性を測定した。また、ウイルスチャレンジ実験では、免疫したマウスに、H3N2 (A/Aichi/2/68) ウイルスを鼻から感染させて 5 日後に、マウス肺のウイルス量を測定した。

【結果】 投与経路の違いにより、CTL の発現の強度や発現部位が異なることが示された。i.p と i.v では、脾臓で CD8+IFN- γ + 細胞が誘導されたが、肺における CD8+IFN- γ + 細胞誘導は見られなかった。一方、i.n 投与では、肺で CD8+IFN- γ + 細胞が誘導されたが、脾臓では誘導されなかった。また、footpad と i.m 投与では肺と脾臓の両方に CD8+IFN- γ + 細胞が誘導された。特に、footpad で最も強く肺に CD8+IFN- γ + 細胞が誘導された。また、免疫したマウス肺でのペプチド特異的 killing 活性は、誘導された CD8+IFN- γ + 細胞数の割合に比例していた。ウイルスチャレ

ンジ実験では、肺に強く CTL を誘導する投与経路のものはウイルスの増殖を抑えることが明らかになった。

【考察】 以上の結果から、インフルエンザウイルスの感染領域が主に肺であるため、肺に多くの CTL を誘導する免疫方法が有効であること、そして、CTL 誘導型ワクチンがインフルエンザウイルスに効果があることが示された。

4. 気道過敏症発症により気道平滑筋で発現増大する遺伝子の解析

(免疫学) 矢那瀬 紀子

(Div. Immunology, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, OH, U.S.A.)

Charles Perkins, Tatyana Orekov,

Crystal Potter, Fred D. Finkelman

喘息などのアレルギー症は社会問題ともなり、抜本的な治療方法の確立が急務の課題となっている。喘息では IL-4 および IL-13 などのサイトカインの産生が増加し、気道過敏症を含む喘息発症に関連していると報告されている。これらのサイトカインが気管支上皮細胞のみならず平滑筋にも直接作用し発症を誘導することが示唆されるが、まだ解明にされていない。今回我々は気管支平滑筋を介する気道過敏症の発症の機序を明らかにする目的で、気道平滑筋で発現増大する遺伝子の解析を行った。

【方法】 IL-4 受容体欠損マウス (IL-4R KO)、平滑筋のみ IL-4R を発現させたマウス (SMP8-IL-4R α /IL-4R α ⁺)、および平滑筋のみ IL-4R 発現を欠如させたマウス (SMP8-Cre⁺/IL-4R α ^{Flox⁻}) を作製した。これらのマウスに IL-13 あるいはハウスダストの吸引により喘息性アレルギーを誘導し、気道抵抗解析法および呼吸機能検査法で解析した。喘息発症時の遺伝子解析は Real time PCR にて行った。

【結果】 野生型のマウス群は、IL-13 刺激により喘息性気道過敏症が認められた。この条件下で、SMP8-IL-4R α /IL-4R α ⁺ マウスでは同様の過敏症を示したが IL-4R KO では発症が認められず、平滑筋の IL-4R が過敏症の発症に重要な働きをしていることが明らかになった。喘息発症した IL-4R KO、SMP8-IL-4R α /IL-4R α ⁺、SMP8-Cre⁺/IL-4R α ^{Flox⁻} マウスで Clca3、Itlnb、Sprr2a、Egln3、Vcan、Myocd、Timp1、Rab39b 等の遺伝子について解析した。Clca3、Itlnb、Sprr2a は喘息発症した野生型でのみ発現が増強され、発現には平滑筋の IL-4R が関与していないことが解った。また、Egln3、Vcan、Myocd、Rab39b、Timp1 の遺伝子の発現では IL-13 刺激により、SMP8-IL-4R α /IL-4R α ⁺ マウスで野生型と同様に発現上昇し、IL-4R KO では増加しなかったことから、この 5 つの遺伝子の発現増大には平滑筋の IL-4R が重要であることが解った。これらの遺伝子は、平滑筋細胞の増殖、分化への関連が報告されており、気道過敏症の発症に関与して

いると考えられる。さらに、SMP8-Cre⁺/IL-4Rα^{Flox/+} マウスでは Myocd、Rab39b での発現が抑制された。これらの研究成果は気道過敏症の機序の解明、アレルギー抑制薬の開発に繋がるものとして期待できる。

5. 当科における食物アレルギー負荷テストの検討

(小児科学) 赤松 信子、鈴木 俊輔、長尾 竜兵
佐藤 智、牛尾 方信、柏木 保代
河島 尚志、武隈 孝治、星加 明徳

食物アレルギーの診断、耐性獲得の判定には経口負荷試験が有用である。しかし経口負荷試験はアナフィラキシーをはじめとする副作用出現の可能性もあるため人手と時間を要する検査である。しかし、不必要な食物除去を続けることは児および家族の QOL を考えれば望ましいことではない。当科では日本小児アレルギー学会作成の「食物アレルギー経口負荷試験ガイドライン」を参考に一日または日帰り検査を試行している。誘発症状は軽微なものからアナフィラキシーまで様々であり、現状と課題について検討した。平成22年一月より食物負荷テストを試行した症例を対象に、症状の程度、治療、経過についてカルテより後方視的に検討した。統一した検査計画により比較的スムーズに負荷テストは実施できた。比較的強い誘発症状を呈した症例もあり、年齢並びに既往症等による負荷設定など負荷テストの施行にあたっては注意が必要であると考えられた。

6. インフリキシマブ治療によるベーチェット病患者の細胞表面 Toll like receptor の変化

(眼科学) 毛塚 剛司、臼井 嘉彦、馬 娟
山本 達郎、松永 芳径、松田 隆作
山川 直之、後藤 浩

【目的】 ベーチェット病の原因は不明であるが、その発症に溶連菌などの細菌感染の関与を示唆する報告がみられる。今回我々は、抗ヒト TNFα 抗体であるインフリキシマブ投与前後における末梢血単核球の細胞表面マーカーを解析し、本剤の奏功メカニズムについて検討した。

【対象と方法】 難治性網膜ぶどう膜炎を有するベーチェット病患者で、十分なインフォームドコンセントを得られた11例を対象とした。インフリキシマブ投与前と投与2週間後に採血を行い、単核球を分離して CD14⁺ 細胞上 toll like receptor (TLR) 2 および 4 の発現を FACS で解析した。また、分離した単核球の一部は auto MACS を用いて CD4⁺T

細胞に単離し、細胞内サイトカイン (IFN-γ、IL-10、IL-17) を FACS で解析した。

【結果】 インフリキシマブ投与により、11例全例で眼炎症発作の頻度が減少した。CD14⁺ 単核球表面上 TLR4 の発現は11例中10例で低下し、TLR2 の発現は11例中8例で低下した。細胞内サイトカインは個々の症例で様々なパターンを示し、一定の結果を得ることはできなかった。

【考按】 今回測定した CD14⁺ 単核球表面上の分子である TLR は、エンドトキシンに対する受容体であり、インフリキシマブ投与により TLR を介したエンドトキシンの感受性が低下している可能性がある。

【結論】 インフリキシマブ投与によるベーチェット病治療により、末梢血単核球における TLR の発現が低下する。

7. 乾癬患者に対するアダリムマブとインフリキシマブの臨床的効果と QOL の検討

(皮膚科学) 林 和人、大久保ゆかり、阿部名美子
藤城 幹山、松本 由佳、夏目 尚子
若松加奈恵、近藤 由佳、三橋善比古
坪井 良治

アダリムマブ (ADA) とインフリキシマブ (IFX) の2つの抗 TNFα 抗体製剤が本邦で初めて乾癬に適応となり、中等症および重症の乾癬患者に対する乾癬治療薬の選択肢が広がった。

当院通院中の中等度以上の乾癬患者17名を対象に、これら2つの抗 TNFα 抗体製剤 (ADA 8例、IFX 9例) を投与し、乾癬に対する臨床的効果を検討した。患者背景は、男性13名、女性4名で平均罹病期間は18年4か月であった。病型は、尋常性乾癬 (PV) 12名、膿疱性乾癬 (GPP) 5名で、投与前の平均 PASI スコア (Psoriasis area and severity index) は18.6、平均 BSA (Body surface area) は37%であった。PASI スコア・BSA・患者アンケート (DLQI、外用薬塗布回数、塗布時間、患者満足度) により皮膚症状並びに QOL の評価を行った。一部の患者では血清サイトカインの測定と病理組織学的検討も行った。投与4か月後には PV で、平均 PASI スコアは19.8が4.0に、平均 BSA は35.3%が8.3%と改善した。GPP では、平均 PASI スコアは15.8が4.3に、平均 BSA は41.6%が20.5%と改善した。また、DLQI、外用薬塗布回数、塗布時間、患者満足度の改善も認めた。両製剤は、PV や GPP に有効であり、現在、継続投薬中である。