

分子免疫学研究部

准教授：斎藤 三郎 免疫学，アレルギー学
 講師：大野 裕治 免疫薬理学
(兼任)
 准教授：黒坂大太郎 臨床免疫学
(兼任)

教育・研究概要

I. インターロイキン 31 の機能解析

インターロイキン-31 (IL-31) は、主に Th2 細胞から分泌され、かゆみや脱毛に関与するサイトカインとして報告されている。我々の作成した IL-31 過剰発現 (IL-31Tg) マウスでは、脱毛、掻痒行動のほかに血清 IgE レベルの上昇が認められた。そこで、IL-31Tg マウスで観察された phenotype が、リコンビナント IL-31 (rIL-31) を正常マウスに投与することで再現できるか検討した。C57BL/6, BALB/c および IL-4 レセプター α ノックアウト (IL-4R α KO) マウスに rIL-31 (10 μ g/マウス/day) あるいは対照として PBS を 2 週間皮下投与した。血清 IgE レベルおよび培養脾細胞からのサイトカイン産生能はサンドウィッチ ELISA 法で測定した。rIL-31 投与群 (C57BL/6 および BALB/c マウス) では、PBS 投与群に比べて血清 IgE レベルの増強が有意に認められた。これに対して、IL-4R α KO マウスでは、血清 IgE レベルの増強は認められなかった。なお、rIL-31 投与 5~7 日後には腹部の脱毛が観察された。rIL-31 投与群の脾細胞からのサイトカイン産生能は、IL-13 および IL-5 産生能において有意な増強が認められたが、IFN- γ 産生能においては差が認められなかった。以上から、IL-31 投与によるマウス血清 IgE レベルの上昇は、Th2 サイトカインの産生増強を介して誘導されると考えられた。現在、IL-31 が IL-13 を分泌促進する機構について解明を進めている。

II. 免疫療法におけるヒノキ花粉アレルゲンの必要性の検討

スギ花粉アレルゲンエキスをを用いた減感作療法は、スギ花粉症に対する有効な免疫療法であるが、ヒノキ花粉飛散時期にはその効果が減弱することが知られている。このことは、ヒノキ花粉アレルゲン特異的 T 細胞のエピトープの存在を示唆する。そこで、スギ花粉アレルゲンとは異なったヒノキ花粉アレルゲン特異的 T 細胞エピトープが存在するのか解析を試みた。スギ花粉症患者末梢血単核球の Cry j 1 の主要な T 細胞エピトープとそれに相当する

Cha o 1 のペプチド部分に対する増殖反応性から、Cry j 1 あるいは Cha o 1 特異的 T 細胞エピトープが存在するのか検討した。その結果、ヒノキ花粉アレルゲン Cha o 1 には、Cry j 1 とは異なった Cha o 1 特異的 T 細胞エピトープのペプチド配列が存在することが明らかになった。さらに、モデルマウスを用いた解析においても特異的 T 細胞エピトープの存在を Cry j 1 および Cha o 1 で明らかにすることができた。今後、飛散時期には減感作療法の効果が減弱する症例について、T 細胞の反応に使用されている Cha o 1 特異的 T 細胞エピトープ部位を明らかにすることが、免疫療法におけるヒノキ花粉アレルゲンの必要性を検討する上で重要と思われる。

「点検・評価」

免疫の基礎研究から応用研究まで、様々な手法を用いて研究を進めている。基礎研究では研究室一丸となって IL-31 の機能解析を進めており、IL-31 過剰発現マウスの作成、サンドイッチ ELISA 法やリコンビナント IL-31 の作成を当研究部で確立した。その過程で、新たな興味ある展開も生まれた。応用研究においても、学内外の多くの研究者との共同研究により、アレルギーや自己免疫疾患に対する病態および発症機構の解明などの研究を進展させることができた。特に、臨床系大学院生や他の教員が数多く当研究部を利用するようになり、開かれた研究室として機能は充分に果たされたと思う。

研究室としては、いくつかのテーマに集約して研究を進めることができたが、獲得した研究費や研究量に比べ本年度も形として残すことができなかつたことは猛省しなければならない。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Ikeshima-Kataoka H, Saito S, Yuasa S. Tenascin-C is required for proliferation of astrocytes in primary culture. *In Vivo* 2007; 21 (4): 629-33.
- 2) Kurosaka D, Yoshida K, Yasuda J, Yasuda C, Noda K, Furuya K, Ukichi T, Kingetsu I, Joh K, Yamaguchi N, Saito S, Yamada A. The effect of endostatin evaluated in an experimental animal model of collagen-induced arthritis. *Scand J Rheumatol* 2007; 36(6): 434-41.
- 3) Kohno H, Sakai T, Saito S, Okano K, Kitahara K. Treatment of experimental autoimmune uveoretinitis with atorvastatin and lovastatin. *Exp Eye*

Res 2007; 84(3) : 569-76.

- 4) Kurosaka D, Yasuda J, Ikeshima-Kataoka H, Ozawa Y, Yoshida K, Yasuda C, Kingetsu I, Saito S, Yamada A. Decreased numbers of signal-joint t cell receptor excision circle-containing CD4⁺ and CD8⁺ cells in systemic lupus erythematosus patients. *Mod Rheumatol* 2007; 17(4) : 296-300.

III. 学会発表

- 1) 斎藤三郎, 秋山暢丈. IL-31 過剰発現マウスの皮膚症状と血清 IgE レベル. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 横浜, 11 月. [アレルギー 2007; 56(8-9) : 1051]
- 2) Saitoh S, Nobutake A, Ikeshima-Kataoka H, Ohno Y. Enhanced serum IgE levels in IL-31 transgenic mice. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会. 東京, 11 月. [日免疫学会学術記録 2007; 37 : 99]
- 3) Saito S, Akiyama N, Ohno Y, Ikeshima-Kataoka H. IgE responses triggered by IL-31. The XXVI Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Goteborg, June. [Allergy 2007; 62(s83) : 457]

分子細胞生物学研究部

- 教授 : 馬目 佳信 分子細胞生物学, 微細形態学, 生化学
准教授 : 小幡 徹 生化学, 内分泌学, 機器分析
准教授 : 佐々木博之 細胞生物学, 微細形態学
講師 : 渡辺美智子 細胞生物学

教育・研究概要

I. 脳腫瘍への音響化学療法の適用

ローズベンガル誘導体などの音響化学物質に超音波が作用すると強い活性化酸素などが発生しこれを取り込んだ細胞や組織などは破壊される。また超音波増感剤として臨床で用いられているマイクロバブルは通常診断で用いられるパワーより強いインテンシティーの超音波が作用すると振動・破壊が起こり、その際に強いエネルギーを放出する。この時の機械的な力を用いて脳実質に発生する脳腫瘍を破壊する新規治療の開発を行っている。脳腫瘍にマイクロバブルを作用させ、どれくらいの割合の細胞に殺細胞効果が及ぶのかについて検討した。また同時に超音波の照射条件についての最適化を行った。

II. 三次元細胞培養による脳腫瘍細胞の微細構造の観察

上記実験を進めるに当たり、*in vitro* で超音波照射条件を検討したが、通常の培養では音響エネルギーの組織に与える効果についての測定が困難であった。生体内の環境を近似する系として三次元培養が行われているが、市販の方法ではまだまだ不十分である。そこで組織吸収性ゼラチンを使用して独自の培養法を提唱し脳腫瘍細胞の微細形態変化について観測した。三次元培養を行うと通常の 2 次元の培養では認められないようなグリア線維のネットワークや細胞外基質の放出などが認められ、この方法で得られた照射条件は動物実験へ適用が可能であった。

III. 高感度エンドトキシン測定法の開発

従来臨床検査などで測定されていたエンドトキシン (ETX) 測定は、その結果と臨床症状または血液培養などその他の検査結果と一致しないことが多く、その乖離から臨床の現場で臨床指標として使われないことが多かった。そこで臨床検査の ETX 測定法として主要なリムルス試薬を用いた比濁時間法