

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：秋山 暢丈 免疫学, 分子生物学
 准教授：黒坂 太郎 臨床免疫学
 (兼任)
 講師：大野 裕治 免疫薬理学
 (兼任)

教育・研究概要

I. インターロイキン 31 の機能解析 Functional analysis of interleukin (IL)-31

インターロイキン 31 (IL-31) は、T 細胞から産生され、かゆみや脱毛を誘発し、アトピー性皮膚炎や気管支炎などのアレルギー疾患に関与するサイトカインである。

当研究部では、IL-31 の機能を解析するために、最初に IL-31 過剰発現 (IL-31Tg) マウスを作製して IL-31 の機能を評価した。IL-31Tg マウスでは、これまで報告されてきた IL-31 の多面的機能、激しい掻痒行動および脱毛の他に、抗原非特異的 IgE 抗体産生の増強が認められた。さらに、IL-31Tg で認められたこれらの多面的機能はリコンビナント IL-31 (rIL-31) を正常マウスに投与することで検証することができた。また、rIL-31 投与マウスは Th2 サイトカイン依存的に IgE 抗体産生を増強することが判明した。そこで、IL-31 による抗原非特異的 IgE 抗体産生のメカニズムを解析するために、ケラチノサイト、活性化マクロファージおよび顆粒白血球などの IL-31 レセプター発現細胞に焦点を絞って、IL-31 刺激によって誘導される Th2 サイトカイン産生増強因子を解析している。さらに、レセプターに対する中和抗体を作成できたので、IL-31 の機能が抑制されるのか、他にもレセプターが存在するのかなどについて解析を進めている。一方では、IL-31 および IL-31 レセプター欠損マウスも作成中で、このマウスを用いて IL-31 の多面的機能がどのような機序で発現誘導されるのか検討する予定である。

II. スギ花粉症治療米を用いた経口免疫療法

経口摂取した異種蛋白に対して免疫応答が抑えられることは、経口免疫寛容として古くから知られている。スギ花粉症に対する経口免疫療法の効果は、これまでマウスで検討されており有効性が示唆されている。しかしながら、経口免疫療法をヒトに応用するためには、投与するアレルゲン量およびどのく

らの期間投与する必要があるか検討する必要がある。マウスで有効性が得られた投与量から換算すると、大量のアレルゲンが必要となるために治療費も莫大になるからである。

近年の分子農業の技術的進歩は、医薬品となる蛋白やホルモンをイネの種子に大量に発現させることを可能にした。作成されたスギ花粉症治療米は、スギ花粉症を克服するために開発された治療用アレルゲン蛋白を発現した組換え米である。アレルゲンの含有量は、スギ花粉症治療米 20 グラムあたり数十ミリグラムである。現在市販されている精製スギ花粉アレルゲンの価格がおおよそ 1 マイクログラムあたり千円であることを考慮すると、スギ花粉症治療米が安価で有効な治療薬となることが期待される。

これまで、スギ花粉症治療米の有効性と安全性を自然発症スギ花粉症ニホンザルに経口摂取させて評価してきた。花粉飛散 2 ヶ月前からスギ花粉症治療米を連日経口摂取させて免疫学的解析による客観的評価と症状観察によって評価した。その結果、スギ花粉症治療米の経口摂取はスギ花粉症に対して安全でかつ有効な治療法であることが示唆された。

さらに、週 3 回の経口摂取での有効性と安全性の評価をした。その結果、免疫応答の強い個体では抑制効果は連日経口摂取群に比較して弱くなる傾向が認められたが、他の個体では週 3 回の経口摂取でも十分な免疫応答の抑制効果が得られた。一方、アナフィラキシー様の症状や体重減少などの副作用はいずれの個体においても認められなかった。

以上、スギ花粉症治療米の経口摂取はスギ花粉症に対して安全でかつ有効な治療法であることが示唆された。今後スギ花粉症治療米を長期間経口摂取させることによって、スギ花粉症の症状が十分軽減されるか検討する予定である。

III. 糖鎖修飾に着目した新しい抗癌戦略の構築

癌細胞に代表される非極性細胞において、N 型糖鎖修飾を阻害により MHC クラス I 拘束性抗原提示を増強し、当該細胞に対する細胞障害性 T 細胞 (CTL) を誘導する新しい抗癌戦略の構築を進めている。IL-31 蛋白質の細胞外放出に端を発した研究により、選択的にクラス I 提示を増強する糖鎖構造を同定した。この知見を用いて意図的に未熟な N 型糖鎖蛋白質を作成し、T 細胞性ワクチンの作成を試みている。また、開発の知見を基に、同様の効果が期待される試薬を作成し、その効果を抗ウイルスもしくは抗癌モデルにおいて検討している。

「点検・評価」

分子免疫学研究部は開かれた研究室を目指している。免疫学の基礎研究としては免疫応答の調節機構の解明を、応用研究としてはアレルギー疾患や自己免疫疾患の病態ならびに治療法の開発を進めている。

基礎研究ではアトピー性疾患に関与するインターロイキン 31 (IL-31) の多面的機能を解析するための様々な手法 (リコンビナント IL-31 の作成法, 定量するための ELISA 法, IL-31 レセプターに対する抗体の作成法) を確立することができた。さらに, IL-31 および IL-31 レセプターノックインマウスも作成中である。スギ花粉症を研究するために, スギ花粉アレルギーの精製法を確立しスギ花粉アレルギー特異的 IgE 抗体価の測定法を開発した。細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を誘導する新しい抗癌戦略の構築も進んでいる。

応用研究においては, 学内外の多くの研究者との共同研究により, 花粉症, 関節リウマチ, SLE や葡萄膜炎などの病態および発症機構の解明などの研究を進展させている。特に, スギ花粉症に対する根本的な治療法の開発は, これまでの基礎研究の成果を踏まえて, 臨床研究に進むべき方向性が見えてきた。

本年も当研究部に研究者, 臨床系の大学院生, さらには学生も数多く出入りしており, 開かれた研究室として機能は十分に果たされたと思う。

しかしながら, 当研究室の専任教員 2 名で, 研究室配属, 選択実習, 免疫学実習などの実習教育, 講義や他の施設との共同研究をいかに効率よく集約して論文発表に導けるかは本年度も大きな課題として残った。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Fukuda T, Akiyama N, Ikegami M, Takahashi H, Sasaki A, Oka H, Komori T, Tanaka Y, Nakazato Y, Akimoto J, Tanaka M, Okada Y, Saito S. Expression of hydroxyindole-o-methyltransferase enzyme in the human central nervous system and in pineal parenchymal cell tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 2010; 69(5): 498-510.
 - 2) Kurosaka D, Hirai K, Nishioka M, Miyamoto Y, Yoshida K, Noda K, Ukichi T, Yanagimachi M, Furuya K, Takahashi E, Kingetsu I, Fukuda K, Yamada A. Clinical significance of serum levels of vascular endothelial growth factor, angiopoietin-1, and angiopoietin-2 in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2010; 37(6): 1121-8.
 - 3) Yoshida K, Kurosaka D, Joh K, Matsushima S, Takahashi E, Hirai K, Noda K, Ukichi T, Furuya K, Yanagimachi M, Kingetsu I, Fukuda K, Yamada A. Fasciitis as a common lesion of dermatomyositis, demonstrated early after disease onset by en bloc biopsy combined with magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum* 2010; 62(12): 3751-9.
- ### III. 学会発表
- 1) 斎藤三郎, 津田真由美, 名竹洋子, 秋山暢丈, 内田善久, 飛田尚重, 阿見祐規, 藤原真希, 小林沙由里, 森 祐介, 佐藤文哉. インフルエンザに関するアンケート調査: 慈恵医大教職員および学生を対象として. 第 127 回成医会総会. 東京, 10 月.
 - 2) 斎藤三郎, 秋山暢丈, 小澤 仁, 藤村孝志, 岡本美孝, 阪口雅弘. 免疫療法におけるヒノキ花粉アレルギーの必要性の検討. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京, 10 月.
 - 3) Saito S, Akiyama N, Yano C, Ishiwata K, Watanabe N, Hirai H, Nagata K, Narumiya S, Nakamura M. The roles of prostaglandin D2 receptors CRTH2 and DP in Th1 or Th2 inflammatory reactions. 14th International Congress of Immunology. Kobe, Aug.
 - 4) Noda K, Kurosaka D, Furuya K, Takahashi E, Ukichi T, Yoshida K, Kingetsu I, Yamada A. Elevation of bombina variegata peptide 8 in mice with collagen-induced Arthritis. *EULAR 2010: the European League Against Rheumatism 11th Annual European Congress of Rheumatology*. Rome, Jun.
 - 5) Yoshida K, Kurosaka D, Joh K, Takahashi E, Hira K, Noda K, Ukichi T, Furuya K, Yanagimachi M, Kingetsu I, Yamada A. Fasciitis is a common lesion of dermatomyositis demonstrable early after disease onset by en bloc biopsy combined with magnetic resonance imaging. *ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2010*. Atlanta, Nov.
 - 6) 古谷和裕, 平井健一郎, 黒坂大太郎, 西岡真樹子, 柳町麻衣美, 吉田 健, 金月 勇, 山田昭夫. RA の病因・病態関節リウマチ患者における血管新生関連因子と疾患活動性との相関. 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸, 4 月.
 - 7) 吉田 健, 柳町麻衣美, 高橋英吾, 平井健一郎, 野田健太郎, 古谷和裕, 浮地太郎, 金月 勇, 黒坂大太郎, 山田昭夫. 皮膚筋炎皮膚筋炎の最初の標的は筋膜付近小血管である 筋膜炎の検出と炎症の進展様式の解析. 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸, 4 月.

8) 野田健太郎, 高橋英吾, 黒坂大太郎, 古谷和裕, 浮地太郎, 吉田 健, 金月 勇, 山田昭夫. マウス膠原ゲン関節炎における Bv8 の発現検討. 第 31 回日本炎症・再生学会, 東京, 8月.

分子細胞生物学研究部

教授: 馬目 佳信 分子細胞生物学・脳神経科学

教育・研究概要

I. 超音波による脳腫瘍局所療法の開発

1. 脳腫瘍への核酸デリバリー

超音波を用いた脳腫瘍, 特にグリオーマに対する新規治療法の開発を行っており, これまでに治療用超音波照射条件を決定してマイクロバブルの存在下で腫瘍を照射部位選択的に破壊する装置を作製してきた。この装置は単独でも生体内でグリオーマ組織を破壊する効果があるが, さらに治療効果を高めるために遺伝子や遺伝子発現を制御する核酸分子のデリバリーとの併用について研究を進めている。実は腫瘍細胞や組織の破壊も核酸分子のデリバリーも超音波の効果としては原理的に同一なもので, これらの作用はキャビテーションによる。すなわちマイクロバブルが超音波の振動で破裂する際のエネルギーによって細胞膜に穿孔をおこす。この際に穿孔した膜部位からさまざまな分子が入り出し, 細胞機能が保たれなくなって組織が障害されたり, 核酸分子が細胞質内に導入されたりする。穿孔された細胞膜はすぐに修復されるが, 修復までに細胞機能が保たれるかどうかは生死の境界となるため, 超音波照射については同じキャビテーション効果でも腫瘍への殺効果と核酸デリバリー効果については異なった条件になる。本年度, 核酸の細胞内へのデリバリーが発生する具体的な照射条件を調べた。

2. RNA 干渉による脳腫瘍細胞増殖シグナルのノックダウン

脳腫瘍では正常の組織と比べて特徴的な細胞内増殖シグナルに関与するカスケード分子の発現が知られており, これらの分子は脳腫瘍の治療のターゲットとして注目されている。本研究部でも脳腫瘍の多くのグリオーマ細胞株で, G タンパク関連 Rho の下位シグナルである ROCK や上皮増殖因子受容体 EGFR, STAT3 などが発現していることを明らかにし, これらの分子の発現を抑制することで腫瘍の増殖が抑制できることを示してきた。すなわち ROCK や EGFR に対する RNA 干渉用, ショートヘアピン RNA 転写ベクターを作製して細胞内に導入することで有意な腫瘍の抑制が認められた。さらに, これらの導入により腫瘍細胞の細胞周期が変化することも明らかとなり, 特に ROCK のイソ