

第141回 東邦医学会例会

平成25年2月8日(金) 午後1時~6時34分

東邦大学医学部大森臨床講堂(5号館B1)

A. 一般講演

1. 左腎摘出5年後に発症した血液透析患者における繰り返す尿路上皮癌の1例

松井幸英(大森泌尿器科)

69歳男性。平成17年に慢性腎不全で治療中に左腎腫瘍を指摘された。左腎細胞癌が疑われ左腎摘出術を施行。淡明細胞癌であった。その後、腎機能悪化を認め血液透析導入となった。平成23年10月に血尿を主訴に来院。膀胱鏡検査にて膀胱腫瘍を認め経尿道的膀胱腫瘍切除術を施行。病理所見は移行上皮癌。術後6カ月以内に2回の膀胱内再発があり病理結果にて腺癌を認めた。血液透析を導入済みのため膀胱再建は考慮せず残存全尿路摘出術を予定。平成24年10月に腹腔鏡下右腎尿管、膀胱、残存左尿管摘出術を施行。右腎、右尿管では悪性所見は認めなかった。左残存尿管から膀胱尿管移行部にかけてG3相当の浸潤性尿路上皮癌を認めた。病変の広がり左残存尿管主体であり左尿管癌が原発巣と診断。頻回な腫瘍再発は左尿管癌によるものと推察された。今回、左腎細胞癌による左腎摘出後に発症した尿路上皮癌において残存全尿路摘出術を行い良好な結果が得られた1例を報告する。

Keywords: ureteral stump, urothelial tumor, bladder cancer

B. 平成23年度プロジェクト研究報告

2. 大動脈弁置換術における機能温存のための臨床解剖学的解析

川島友和, 村上邦夫(生体構造学)

近年著しく増加した大動脈弁弁膜症において、標準的治

療である外科的大動脈弁置換術(surgical aortic valve replacement: SAVR)と、本邦でも近年開始された高齢者ハイリスク開心術患者にも適応可能な経カテーテル弁埋め込み術(transcatheter aortic valve implantation: TAVI)のさらなる術後機能温存のために臨床解剖学的解析を行った結果、次の結論を得た。(1) SAVRのアプローチのための大動脈周囲の解析より、重要な心機能を担う神経機能をほぼ全例で温存するためには、右冠状動脈開口部より背外側部で斜切開を行うべきである。(2) TAVIの弁埋め込み部の検討のために大動脈弁と刺激伝導系の位置関係を精査した結果、ヒス束分岐部は大半の例で(ventriculoaortic junction: VAJ)より遠位部の弁内部に位置した。解剖学的根拠に基づけば、人工弁種や高さに依存せず、多数例で深刻な伝導障害をきたすことが予想されるが、実際は術後永久ペースメーカー埋め込み対象となる完全房室ブロックの頻度の方は少ないことから、適したサイズの人工弁を選択しているかという圧迫要因も強く関係があることが示唆された。

Keywords: clinical anatomy, surgical aortic valve replacement (SAVR), transcatheter aortic valve implantation (TAVI)

3. 性ホルモンがオレキシンによる体重制御機構に及ぼす影響の研究

高瀬堅吉, 横藤田純子, 船戸弘正(微細形態学)

安価な高脂肪食が普及した現在、肥満人口が爆発的に増加している。また、食環境に加え、中高年における肥満には性ホルモン環境の変化が原因の1つとして示唆されている。しかし、その詳細は明らかではない。C57BL/6マウスは高脂肪餌で飼育すると肥満することから、ヒトの肥満のよいモデルとなる。最近、われわれはオレキシン2型受容体の活性を高めるとマウスが高脂肪食飼育でも肥満しないことを示した。そこで、オレキシン2型受容体を発現して

いる脳部位のうちで雌雄マウスの体重制御に関わっている部位を同定し、さらに、性ホルモンがオレキシンによる体重制御機構に及ぼす影響を検討した。c-Fos 陽性細胞数を指標にして、オレキシン2型受容体アゴニストによる体重制御に関与する脳部位を検討した結果、オレキシン2型受容体アゴニストは弓状核のアグーチ関連ペプチド (agouti related peptide: AgRP) 分泌ニューロンの活動を抑え、これが個体の摂食量低下に関与することが示唆された。また、AgRP ニューロンの活動低下により、同ニューロンが投射する視床下部外側野のメラニン凝集ホルモン分泌ニューロンの活動も低下し、これが自律神経を制御する脊髄のニューロンの活動低下を引き起こし、個体の代謝率上昇に関与することが示唆された。以上より、オレキシン2型受容体の活性を高めるとマウスが高脂肪食飼育でも肥満しないメカニズムが明らかにされた。しかし、オレキシン2型受容体アゴニストは背側縫線核の gamma-aminobutyric acid (GABA) ニューロンの活動も上昇させた。この生理的意義については、摂食・代謝調節神経回路に性ホルモンが与える影響と合わせて、現在検討中である。

Keywords: orexin system, body weight, sex hormone

4. 神経変性に関与するストレスシグナルの解析

小林正明 (細胞生理学)
本田なつ絵 (総合診療・救急医学)

海馬に特徴的に発現するカルシウム結合蛋白質; ヒポカルシン (hippocalcin: Hpca) の標的分子として mixed lineage kinase (MLK) 3 を見いだした。Hpca は *in vitro* でカルシウム依存性に MLK3 キナーゼ活性を抑制することが判明した。Hpca 欠損マウスの海馬では resting state における MLK3 の活性亢進が認められた。グルタミン酸受容体 (glutamate receptor: GluR) 6 のアゴニストであるカイニン酸を Hpca 欠損マウスに腹腔内投与した場合、誘導される MLK3 の活性化に亢進が認められ、cresyl violet 染色陽性および terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate-biotin nick end labelling (TUNEL) 染色陽性の神経細胞死の亢進を認めた。以上の結果から、Hpca は神経細胞内で MLK3 を介するストレス応答性の細胞死実行経路を抑制し、神経細胞の生存・維持に関与すると考えられる。

Keywords: hippocalcin, mixed lineage kinase 3(MLK3), apoptosis

5. 概日性細胞内シグナルとストレス応答システムのクロストーク

田丸輝也 (細胞生理学)
眞野容子 (微生物・感染症学)

概日リズムは、温度やさまざまなストレス等の日内変動に適応するために進化したと考えられる。ヒートショック応答系 (heat shock response: HSR) は普遍的なストレス応答系の1つで、heat shock factor (HSF) 1 は HSR の中核転写因子である。ここで、われわれは「適度なストレスは概日リズムを同調させ、生体防御系を賦活する」という仮説に基づき、適度な heat shock (HS) また酸化ストレス (oxidative stress: OS) により、リズム同調が起きるか調べた。その結果、ある条件の HS/OS パルスによって、急性の Per2 (時計)・HSF1 制御遺伝子発現上昇応答、リズム同調が起きた。また、このパルスによるリズム同調には HSF1 と時計転写促進因子 [brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (Arnt) -like protein-1: BMAL1] が必須であることが分かった。また、HS パルス後、HSF1 と BMAL1 の結合が認められた。以上から、HS/OS によってリセットされる哺乳類概日リズム発現系とそれに伴う生体防御系の賦活に概日システムと HSR システムのクロストークが関与していることが示された。

Keywords: circadian, stress, heat shock

6. 心房の伸展刺激に対する反応制御機構の解明

中瀬古寛子, 本田 淳 (薬理学)

脂質結合蛋白質 steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10) は心臓では心房筋のみ発現し、L型 Ca²⁺ チャネル α_1 サブユニット Cav1.2 の C 末端へ結合する。また圧負荷によってラット心房筋では STARD10 の messenger ribonucleic acid (mRNA) 発現が低下することを見いだしている。そこで本研究では野生型と *Stard10* knockout (KO) マウスを比較し、心房筋における STARD10 の機能を解析した。摘出心房筋に伸展刺激を加えると野生型では拍動数は維持され収縮張力が増大するのに対し、KO では拍動数が有意に増加し収縮張力の増大は有意に抑えられた。酸素消費量の指標 (拍動数×収縮張力) に差はなかった。単離心房筋細胞の L型 Ca²⁺ チャネル電流は筋小胞体からの calcium-induced calcium release (CICR) による Ca²⁺ 依存性不活性化が野生型に比べ KO で強かった。以上より、STARD10 の欠如は心房筋の L型 Ca²⁺ チャネル電流の Ca²⁺ 依存性不活性化を増強し、その結果、活動電位幅を短縮して、伸展刺激に対する拍動数の増加を引き起こしたと推察した。

Keywords: atrium, L-type Ca²⁺ channel, steroidogenic

acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10)

7. 新規脂質結合蛋白 STARD10 は心筋細胞において細胞膜脂質代謝を介して副交感神経受容体シグナル伝達を制御する

丸山博子 (薬理学)
澤 友歌 (大森小児科)

心臓の脂質代謝と自律神経伝達物質の細胞膜受容体シグナルとの関係性について検証するために、野生型マウス (wild type : WT) と脂質結合蛋白 phosphatidylcholine transfer protein-like protein STARD10 knockout マウス (KO) の摘出心房筋を用いて、脂肪酸もしくはグルコースを欠損させた溶液内で atrial rate (AR) を測定した。また O₂ 投与を 10 分間中止することで低酸モデルを作成し、エネルギー供給障害に対する心房筋の反応を観察した。WT の心房筋においては、エネルギー基質の欠損やエネルギー供給の障害により、AR が著しく低下するという結果を得た。KO の心房筋においてもエネルギー供給が障害されると、AR が著しく低下した。一方、KO ではグルコース欠損下で低酸素に曝しても AR は維持されていた。心房の自動能は、エネルギー基質の変化やエネルギー供給障害の影響を受けることが明らかとなった。これは、adenosine 5'-triphosphate (ATP) 産生量および cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A (cAMP/PKA) シグナル伝達経路を介した Ca²⁺ サイリング機構の変化によるものと考えられる。

Keywords : atria, energy metabolism, cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A (cAMP/PKA) signaling

8. 脂質転移タンパク質 STARD10 の分子複合体による脂質代謝調節機構の解明

伊藤雅方 (薬理学)
小田哲子 (微細形態学)

これまでに steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10) が肝臓、胆嚢および小腸において発現し、*Stard10* ノックアウトマウス (*Stard10*^{-/-}) では肝臓中のケノデオキシコール酸含量増加および二次胆汁酸含量低下があり、また胆汁酸の胆汁への分泌と糞便中への排泄の増加があることを明らかにしてきた。今回、肝臓でのコール酸産生に關与する cytochrome P450, family 8, subfamily b, polypeptide 1 (*Cyp8b1*) と胆汁酸脱抱合に關与する acyl-CoA thioesterase (*Acot*)、小腸での胆汁酸再吸収を担う apical sodium

dependent bile acid transporter (*Asbt*) について解析し、*Stard10*^{-/-}での発現低下を明らかにした。これらの遺伝子は peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR α) により制御されると考えられている。そこで、マウス肝癌由来細胞株 Hepa1-6 を用い、small interfering ribonucleic acid (siRNA) による *Stard10* ノックダウンを行ったところ、PPAR α の活性が有意に低下した。一方、過剰発現では有意に上昇した。よって、STARD10 は PPAR α 標的遺伝子の発現を正に調節することで胆汁酸を介した脂質代謝の制御に關与すると考えられた。

Keywords : bile acid, peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR α), steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer domain containing 10 (STARD10)

9. IL-12/23p40 産生シグナルに対する EtOH 抑制作用の解析

石川文雄 (免疫学)
高島明子, 内出一郎 (佐倉産科婦人科)

樹状細胞からの interleukin (IL)-12/23p40 産生はエタノール (ethanol : EtOH) 処理マウスで著しく低下した。しかし、*in vitro* での EtOH とアセトアルデヒド添加は樹状細胞 (dendritic cells : DCs) からの IL-12/23p40 産生を阻害しなかった。これに対しアルコール最終代謝アセテートは、IL-12/23p40 産生とメッセンジャー ribonucleic acid (RNA) 発現を抑制した。一方、細胞内シグナル系では mitogen-activated protein (MAP) キナーゼの extracellular signal-regulated kinase (ERK) 活性をアセテートが著しく抑制したが、ERK 阻害剤 PD98059 と phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) 阻害剤 Wortmannin は IL-12/23p40 産生を逆に増強した。

以上の結果より、EtOH 吸入処理マウスからの IL-12/23p40 産生抑制は、EtOH 代謝産物アセテート添加により誘導された。しかし、IL-12/23p40 産生シグナル系に対するアセテート作用については不明で少なくとも MAP キナーゼ以外への作用が示唆された。

Keywords : IL-12/23p40, acetate, mitogen-activated protein (MAP) kinase

10. ヘルパー T 細胞分化における核内転写制御因子の役割の解析

田中ゆり子 (免疫学)
永井英成 (大森消化器内科)

核内転写制御因子の special AT-rich sequence binding protein 1 (SATB1) は、マウスの胸腺細胞に強く発現して

おり、クロマチン構造と遺伝子発現を制御するゲノムオーガナイザーとして働いている。このSATB1の発現が、血球系細胞でのみ欠損するコンディショナルノックアウトマウス [SATB1^{fl/fl} Vav-Cre/+, SATB1 conditional knockout (cKO)] を作製し免疫学的な解析を行った。

SATB1 cKO マウスでは、胸腺細胞のポジティブセレクションとネガティブセレクションともに異常が認められ、SATB1はCD4⁺ single positive (SP), CD8⁺ SP細胞の分化に重要であることが示唆された。また、SATB1 cKO マウスは、15週齢前後から抗二本鎖DNA抗体価の上昇や、体毛の白斑、唾液腺への細胞浸潤などが認められ、自己免疫疾患様の症状を呈することが明らかとなった。

Keywords : special AT-rich sequence binding protein 1 (SATB1), T cell development, autoimmune disorder

11. EMAST 腫瘍発生に着目した大腸癌肝転移分子メカニズム解明のための基礎的検討

有田通恒 (免疫学)

菊池由宣 (大森消化器内科)

マイクロサテライト不安定性の一形式である elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeat (EMAST) は散発性大腸癌の約6割に見いだされ、悪性度と正に相関する。しかしながら、これら腫瘍でEMASTの原因遺伝子 mutS homolog 3 (*MSH3*) の変異やエピジェネティック異常は見いだせない。本研究では、EMAST大腸癌が示す悪性化の分子基盤解明を目的として、*MSH3*不活化機構の検討を行った。まず、悪性化に関連する癌微小環境の1つ低酸素状態に着目した。低酸素下で培養したヒト大腸癌由来細胞株の*MSH3*発現を調べたところ、mRNAと蛋白質の両レベルで低下が認められた。p53依存 (rapid) とp53非依存 (moderate) の2つの抑制様式があることも見いだした。次に、*MSH3*発現抑制を担う転写制御因子を同定するために、転写制御領域の特定を行った。その結果、転写制御に重要な領域およびその近傍に低酸素で活性化する転写因子 hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) の結合部位が2カ所見いだされた。低酸素下ではこれら部位にHIF-1の α サブユニットを含む複合体が結合して*MSH3*発現が抑制されることも明らかとなった。*MSH3*発現が抑制される低酸素条件でEMAST発生が確認できれば、腫瘍悪性化に関連する因子探索の糸口になると考えられる。

Keywords : elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeat (EMAST), mutS homolog 3 (*MSH3*), hypoxia

12. 転写因子 STAT5 の分子修飾による機能変化とリンパ球恒常性維持との関連

桑原 卓 (免疫学)

矢野ともね (佐倉産科婦人科)

インターロイキン2 (IL-2) 受容体 (IL-2R) の下流で転写因子として機能する signal transducer and activator of transcription 5 (STAT5) はリン酸化によりその活性が制御されるとされてきた。われわれはIL-2刺激後にリン酸化だけでなくSTAT5のアセチル化を検出した。この生物学的意義を調べるため、STAT5のアセチル化機構を解析した。STAT5のリン酸化カスケードにおいて上流に位置する、チロシンキナーゼ Jak1 と Jak3 も IL-2 に依存してアセチル化されていることがわかった。通常アセチル化酵素は核内に局在すると考えられているが、IL-2刺激により核外に輸送されていた。細胞質に移行したアセチル化酵素はIL-2Rに結合していることも併せて示した。質量分析計による解析から、アセチル化酵素は CREB-binding protein (CBP) であることを明らかにした。

以上のことから、STAT5やJakのアセチル化はIL-2刺激により核から受容体細胞質内領域に局在を変えたCBPによると考えられる。今後はアセチル化STAT5の機能を明らかにしていく予定である。

Keywords : cytokine signaling, acetyltransferase, post-translational modification

13. 受精調節タンパク質ダイカルシンの作用機構の解析

三輪尚史 (細胞生理学)

齋藤善雄 (物理学)

受精のプロセスは、卵を取り囲む細胞外の保護膜に精子が結合することから始まる。アフリカツメガエルから同定された受精調節因子ダイカルシンは、卵保護膜の糖鎖分布を制御することで、精子-卵間の相互作用を調節し受精を阻害する。本研究では、ダイカルシンの受精調節作用の分子機構を解明するために、ダイカルシンと卵保護膜糖タンパク質 gp41 の相互作用領域を解析した。ダイカルシンの一部アミノ酸配列を欠失した変異体を作製し gp41 との結合能を解析したところ、ダイカルシンのN末半分領域内に高親和性領域が存在することを示唆する結果を得た。さらに、当該領域に対応する合成ペプチドは顕著な受精阻害作用を示した。以上より、これらのアミノ酸領域がダイカルシンの gp41 結合領域であることが分かった。

Keywords : dicalcin, fertilization, gp41

14. マウス卵母細胞における Cdc7 の活性化機構

村井 晋 (生化学)

福田雄介 (大森産科婦人科)

真核生物の染色体複製には G1 期での 2 種類のキナーゼ, cyclin-dependent kinase2(Cdk2) と cell division cycle 7 (Cdc7) の活性化が必要である. マウス受精卵に PHA767491 を作用させ Cdc7 の活性を阻害すると, 前核クロマチンへの bromodeoxyuridine (BrdU) の取り込み能が完全に失われた. この結果から Cdc7 の活性化がマウス受精卵の染色体複製に必須であることが明らかとなった. Cdc7 は未成熟卵母細胞から受精卵にいたるまでその蛋白量が一定であったため, 染色体複製に十分な量の Cdc7 が未成熟卵母細胞ですでに発現していることが示唆された. しかし Cdc7 キナーゼ活性を検出した結果, Cdc7 は Dbf4 の合成によって卵成熟後に活性化されていることが明らかになった. さらに Cdc7 が受精後にはじめて染色体上に局在するようになることから, マウス受精卵での染色体複製能の獲得には受精前におこる Cdc7 の活性化と受精後に形成される前核への Cdc7 の局在が重要であることが示唆された.

Keywords : DNA replication, Cdc7 kinase, mouse-fertilized eggs

15. モデルマウスを用いた特発性肺高血圧症に関する遺伝子発現様式に関する検討

若山 恵 (大森病院病理学)

下平佳代子 (大森小児科)

ヒト特発性肺高血圧症 (idiopathic pulmonary arterial hypertension : IPAH) 発症に関与する未知の内性因子を探索するために, 一般環境内真菌の 1 つである *Stachybotrys chartarum* をマウスの気管内に反復接種することで作製した IPAH に類似した肺血管改築誘発モデルマウスの遺伝子発現解析をマイクロアレイ解析, gene ontology 解析および pathway 解析を用いて行い, 既報のヒト IPAH の遺伝子変動様式と比較した. 発現上昇があった遺伝子の pathway 解析からは bone morphogenetic protein (BMP) signaling や Janus kinase/signal transducers and activators of transcription (JAK/STAT) pathway の関与が示唆され, これはヒト IPAH と同様であった. しかし, ヒト IPAH で発現低下する transforming growth factor beta (TGF β) signaling と発現上昇する Wnt/planar cell polarity (PCP) pathway の関与は本モデルでは認められず, 外生因子の介入によって変動が認められないこれらの経路が, IPAH 発症への関与が想定されるシグナリングの上流に位置すると考えられた.

Keywords : idiopathic pulmonary arterial hypertension

(IPAH), transforming growth factor beta (TGF β) signaling, Wnt/planar cell polarity (PCP) pathway

16. ガッティ型肺クリプトコックス症に関する病態解析

大久保陽一郎 (大森病院病理学)

陳 怡如 (大森皮膚科)

われわれは感染拡大傾向が危惧されている *Cryptococcus gattii* (*C. gattii*) の毒力規定因子の一端を解明すべく各種解析を行った.

本研究ではクリプトコックス属菌 9 株 [*C. gattii* 7 株, *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*) 2 株] を用いて各種生物学的諸性状, multilocus sequence typing 型解析による分子型 (*C. gattii* のみ) を検索した. さらに, 毒力の異なる *C. gattii* 2 株 (TIMM4097・TIMM4903) を用いた感染モデルマウスを作成し, 組織学的解析を対象とした比較を行うと同時に, 遺伝子発現量についても解析した. その結果, 用いた菌株間で生物学的諸性状に有意な差は認められず, *C. gattii* はすべて VG I 型であった. *C. gattii* 2 株を用いたマウス肺病変では組織反応および増殖領域に著明な差がみられた. マイクロアレイ法では強毒株 (TIMM4097) 接種マウス肺において幾つかの遺伝子に発現亢進が確認された. 以上の所見より, *C. gattii* 2 株を用いたマウスの肺病変では組織像に著明な差が認められ, これらの違いが菌体の肺胞上皮に対する高い接着能に基づく可能性が示唆された.

Keywords : *Cryptococcus gattii*, DNA microarray, invasive fungal infection

17. Dectin-1 遺伝子欠損マウスを用いた深在性真菌症感染モデルの解析

石渡誉郎 (大森病院病理学)

中山晴雄 (大橋脳神経外科)

近年, 深在性真菌症の頻度が増加しているが, 迅速診断法および有効な治療法の確立には病態の解析が不可欠である. 酵母血流感染症における dectin-1 蛋白の関与を明らかにすることを目的とした. Dectin-1 遺伝子欠損マウスおよび C57/BL6J に免疫抑制を施行し, *Trichosporon asahii* (*T. asahii*) 15, *Candida albicans* J2-10 を接種. 摘出した腎臓より腎組織 1 g 当りの生菌数を算出, また組織学的解析を行った. その結果, *T. asahii* 15 株接種群において, dectin-1 遺伝子欠損マウスの腎組織 1 g 当りの生菌数は C57/BL6J よりも有意に増加していた.

以上のことから, *T. asahii* 感染群では, C57/BL6J と dectin-1 遺伝子欠損マウスの間に有意差を認めた. 本研究の結果が, *T. asahii* に対する免疫において, dectin-1 が関与して

いる可能性を示唆する。

Keywords : dectin-1, *Candida albicans*, *Trichosporon asahii*

18. アザチオプリンの副作用発現と代謝酵素遺伝子の遺伝子多型

北原加奈子, 高木賢治 (大森膠原病)

アザチオプリン (azathioprine : AZA) は, 膠原病などの自己免疫疾患の治療や臓器移植に広く用いられる免疫抑制薬である。まれながら, 重篤な副作用に骨髄抑制があり, その副作用発現には AZA 代謝酵素の遺伝子多型が関与する可能性が示唆されている。本研究は, AZA 代謝酵素の遺伝子多型と副作用出現との関連を明らかにすることを目的とした。診療録情報より, AZA 投与後に骨髄抑制を生じた症例は 4 例認められた。それらの患者より同意を得て末梢血からゲノム DNA を作製し, polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法にて遺伝子型を判定した。チオプリンメチルトランスフェラーゼ (thiopurine methyltransferase : TPMT) はすべて野生型であったが, イノシントリホスファターゼ (inosine triphosphatase : ITPA) については 4 症例中 2 症例で C94A の変異が認められた。以上より, 今回の検討から, TPMT が野生型であっても ITPA の変異があると骨髄抑制合併に関与する例があることが示唆された。

Keywords : azathioprine, myelosuppression, polymorphism

19. 関節リウマチ滑膜における IL-17 の発現と関節破壊機序

中島 新, 青木保親, 園部正人
柴田孝史, 佐々木裕 (佐倉整形外科)
寺井謙介 (佐倉病院病理部)

Rheumatoid arthritis (RA) 滑膜における interleukin-17 (IL-17), interferon-gamma (IFN- γ), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) の発現を解析し, これらによる関節破壊制御のメカニズムを検討することを目的とした。

RA 患者 20 例 20 関節から手術時に採取した滑膜を用いた。Ribonucleic acid (RNA) 抽出後 IL-17, IFN- γ , TNF- α に対する TaqMan[®] probe を用いてリアルタイム polymerase chain reaction (PCR) を行った。次に, 滑膜線維芽細胞 (fibroblast-like synoviocytes : FLS) をこれらの炎症性サイトカインで刺激し, 培養上清中の

matrix metalloproteinase-3 (MMP3) 濃度を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) にて測定した。その結果, PCR では IL-17 は約半数の症例にしか発現が認められなかったが, IFN- γ , TNF- α は多くの症例で発現が認められた。興味深いことに, IL-17 が寛解例の 20 倍, 60 倍と異常高値を示した症例では TNF- α の発現は認められなかった。FLS からの MMP3 産生は IL-17 単独による刺激では変化がなかったが, IFN- γ との共刺激によって増加した。

In vitro で IL-17 と IFN- γ の共刺激によって FLS からの MMP3 産生が増加したことから, 局所レベルでは IL-17 の軽度増加でも IFN- γ 増加によって関節破壊が進行することが示唆された。

Keywords : rheumatoid arthritis, synovium, interleukin-17 (IL-17)

C. 平成 23 年度医学研究科推進研究報告

20. 免疫寛容の成立における SATB1 遺伝子の機能解明

近藤元就 (免疫学)

Special AT-rich sequence-binding protein-1 (SATB1) は chromatin organizer としての機能を有する核タンパクである。そのため, SATB1 はさまざまな遺伝子の発現調節に関わっている。われわれは SATB1 の T 細胞における機能を解析する目的で, T 細胞特異的, あるいは血球特異的に SATB1 遺伝子を欠損するコンディショナルノックアウトマウス (SATB1KO マウス) を作製した。われわれは, SATB1KO マウス血清中の自己抗体価が生後 6~8 週より顕著に上昇することを見いだした。今回われわれは, SATB1 遺伝子欠損による自己免疫発症機構を解明する目的で, SATB1KO マウスの regulatory T (Treg) 細胞の機能解析を行った。SATB1KO マウス脾臓中の nTreg の数, 機能にはともに, 野生型マウスに比し顕著な違いはみられなかった。また, ナープ T 細胞から誘導される iTreg にも違いはなかった。ところが, HY-TCR トランスジェニックの系を用いてネガティブセレクションについて調べたところ, SATB1KO マウスでは明らかにネガティブセレクションに異常のあることがわかった。したがって, SATB1 は中心性自己免疫寛容成立に不可欠であることが明らかになった。

Keywords : tolerance, regulatory T cell, autoimmune disease