

樋上謙士<sup>1</sup>・上田寛之<sup>1</sup>・堀場 恵<sup>2</sup>・柏崎禎夫<sup>1</sup>

### 11. ヒト CD4<sup>+</sup>T 細胞の成熟度の解析

(<sup>1</sup>微生物学免疫学, <sup>2</sup>循環器小児外科) 今西健一<sup>1</sup>・瀬尾和宏<sup>2</sup>・  
加藤秀人<sup>1</sup>・三好秋山 徹<sup>1</sup>・張 瑞華<sup>1</sup>・  
高梨吉則<sup>2</sup>・今井康晴<sup>2</sup>・内山竹彦<sup>1</sup>

座長 今西健一 (微生物学免疫学)

### 12. NOD/SCID マウスにおけるヒト末梢血・臍帯血移植の検討

(母子総合医療センター) 高橋尚人

### 13. マウス MHC クラス II I-A<sup>d</sup>分子 mutation の T 細胞抗原認識への影響

(母子総合医療センター) 高橋尚人

### 14. Myelopathy を呈し idiopathic CD4<sup>+</sup>T-lymphocytopenia を

疑われた成人男子例

(神経内科) 太田宏平・橋本しをり・柴田興一・市川久恵・  
清水優子・植田美加・岩田 誠

### 1. リンパ濾胞内リンパ球の増殖とアポトーシス —濾胞樹状細胞-リンパ球クラスターとの関連—

(<sup>1</sup>東女医大・第二病理, <sup>2</sup>山形大・医学部・第  
二病理) 山川光徳<sup>1</sup>・大類 広<sup>2</sup>・  
榎本浩子<sup>1</sup>・増田昭博<sup>1</sup>・笠島 武<sup>1</sup>

扁桃 2 次リンパ濾胞の dark zone (DZ) は B 細胞の増殖の場である。また、胚中心 B 細胞の一部は濾胞樹状細胞-クラスター (FDC cluster) を形成する。しかし、リンパ濾胞の他の領域や FDC cluster 内のリンパ球がどんな cell cycle phase にあり、どれ程の頻度で apoptosis に陥るかは不明である。我々は、免疫染色と ISH 法による cell cycle phase および分離 FDC cluster での apoptosis を評価した。その結果、いずれの cell cycle マーカーも DZ と outer zone (OZ) で高率に陽性であった。分離 FDC cluster での検討では、クラスター内リンパ球はクラスター外のものに比べ cyclin B1 と Ki-67 陽性率が有意に低く、apoptosis も低頻度であった。以上より、DZ のみならず細胞の通路と推定されてきた OZ も増殖の場である可能性があり、また、FDC cluster はリンパ球の増殖や apoptosis を完了させる場ではないことが示唆された。

### 2. 急性肝炎・劇症肝炎における血中可溶性 VCAM-1 測定の意義

(消化器内科) 春田郁子  
鈴木智彦・山口尚子・宮園裕子・  
徳重克年・山内克巳・林 直諒

[目的] 各種肝炎における可溶性 VCAM-1 濃度を測定し臨床意義を検討した。

[方法] 急性肝炎 (AH) 10 例、劇症肝炎 (FH) 5 例、正常 (cont.) 11 例、疾患コントロール・脂肪肝 10 例の血清を用い血中 sVCAM-1 の濃度を測定した。更に AH・FH および cont. の肝組織で免疫染色法で VCAM-1 およびリガンドの VLA-4 の局在を検討した。

[結果・考察] cont. ( $414.7 \pm 216.9$ ) に比し AH ( $1876.4 \pm 362.8$ ), FH ( $3060.6 \pm 1175.4$ ) と sVCAM-1 の有意な上昇 ( $p < 0.01$ ) をみた。正常群と疾患コントロール群 ( $411.1 \pm 128.8$ ) で sVCAM-1 値に有意差はみられなかった。AH の極期にみられた sVCAM-1 の上昇は肝炎の回復に伴い改善した。肝組織では cont. に比し AH・FH で、血管内皮上で VCAM-1 の発現の増強、浸潤リンパ球上の VLA-4 の発現の増強がみられた。肝炎の重症度の評価に血中可溶性 sVCAM-1 の測定は有用であると考えられた。

### 3. ベーチェット病のぶどう膜炎患者の末梢血の sFas 検索

(第二病院・眼科) 武藤哲也・野内文乃・  
末丸純子・助川祥一・太刀川貴子・  
稲葉午朗・氏原 弘・宮永嘉隆

ベーチェット病患者血清の sFas は活動期と非活動期で有意差はなかったが、対照よりは有意に高値を示した。

ベーチェット病患者および健康人の sFas と年齢との間に相関が認められた。sFas は加齢とともに増加する傾向がある。ベーチェット病の年齢との相関は活動期・非活動期の相違によるものと考ええる。

末梢血活性化 T 細胞の Fas 感受性は健康人より増

加している。病勢との関係は改善に向かう場合に感受性が高い。活性化 T 細胞は炎症抑制的に働いている可能性がある。

#### 4. 免疫抑制性サイトカイン遺伝子導入癌細胞の腫瘍増殖性に関する検討

(第二病院・外科) 若杉慎司・  
小川健治・勝部隆男・梶原哲郎

免疫抑制に働くサイトカインといわれる interleukin-1 receptor antagonist protein (IRAP) および interleukin-10 (IL-10) の腫瘍増殖性への影響について検討した。

まず、切除した胃癌 6 例、肝細胞癌 3 例から得た癌組織を用い、RT-PCR で m-RNA レベルでの IRAP, IL-10 の発現を検索し、全例での発現を確認した。また、ルイス肺癌 (LLC) 細胞株にそれらの遺伝子をリポフェクチン法にて導入し、癌細胞の増殖性を検索したところ導入した細胞は有意の腫瘍増殖性の亢進を示した。

以上のことより、IRAP, IL-10 は免疫抑制を介して腫瘍増殖につよく関与すると考えられ、その遺伝子を抑制することは、がんの遺伝子治療の新たなターゲットになる可能性が示唆された。

#### 5. ヒト $\gamma\delta$ 型 T 細胞の活性化とその抗癌作用の解析

(微生物学免疫学) 田中義正・  
韓麗子・張華・内山竹彦

〔目的〕現在までにヒト  $V\gamma 2V\delta 2$  型 T 細胞の天然抗原として *Mycobacterium smegmatis* の培養液中からイソペンテニルピロリン酸が同定されている。今回、さらに高活性のピロリン酸を探索するためにアルキル、アルケニルピロリン酸、トリリン酸をランダム合成し、それらの活性を比較するとともに、それにより活性化された  $V\gamma 2V\delta 2$  型 T 細胞の抗癌作用を検討した。

〔方法〕トリクロロアセトニトリルを触媒とし、一連のピロリン酸、トリリン酸モノエステルを調製した。 $\gamma\delta$  型 T 細胞活性測定は、ピロリン酸、トリリン酸モノエステル Na 塩を各種濃度で  $V\gamma 2V\delta 2$  型 T 細胞クローン (12G12)  $5 \times 10^4$ /well に作用させ、2 日間培養後、 $^3\text{H}$ -チミジンの取り込みを測定することにより行った。また、癌細胞として EJ-1 細胞、Daudi 細胞、T24 細胞を用いた。

〔結果・結論〕炭化水素主鎖を一定としメチル基の位置を変えたところ、活性に大きな変化がみられ、イソペ

ンテニルピロリン酸より 10~20 倍程度活性の高いものから 10 倍以上低いものまで様々な誘導体が得られた。また、ピロリン酸系抗原によって活性化された  $V\gamma 2V\delta 2$  型 T 細胞は EJ-1 細胞、Daudi 細胞、T24 細胞のいずれに対しても細胞障害性を有していた。

#### 6. HCV core 蛋白持続発現 Cell Line の樹立とその検討

(消化器内科) 山口尚子・  
徳重克年・鈴木智彦・宮園裕子・  
春田郁子・山内克巳・林直諒

〔目的〕近年、HCV のウイルスそのものの細胞障害性が注目をあびている。今回我々は、2 種類のプロモーターを用いて、HCV core 蛋白持続発現肝癌細胞株を樹立し、HCV core 蛋白の細胞に及ぼす影響に関して検討した。

〔方法〕HCV core gene と envelope gene の一部を CMV プロモーター (pCDNAHX TH-1)、または elongation factor 1- $\alpha$  プロモーター (P/3EFproEX TH-1) を用いて発現させる 2 種類の plasmid を作製した。

〔結果〕これらの plasmid をヒト肝癌細胞 (HuH7 cell, HepG2 cell) に、Ca 沈澱法で遺伝子導入した。導入 2 日後では、両者の plasmid とも HCV core 蛋白の発現が認められた。しかし、neomycin で 2 週間 selection をかけたのち、HCV core 蛋白の発現を調べたところ、P/3EFproEX TH-1 を導入した細胞のみ持続的に HCV core 蛋白の発現が認められた。次に、HCV core 蛋白持続発現肝癌細胞株を調べたところ、死細胞や細胞の形態の変化は認められなかった。しかし、細胞の増殖能を調べたところ、非発現 cell line に比較して細胞増殖能の低下が認められた。さらに抗 Fas 抗体を加えたところ、HCV core 蛋白を持続発現した cell line のみアポトーシスが認められた。

〔考察〕elongation factor 1- $\alpha$  プロモーターを用いることによって、HCV core 蛋白持続発現肝癌細胞株が樹立できた。さらにこれらの cell line は、細胞増殖能の低下が認められ、抗 Fas 抗体を加えることによってアポトーシスも認められ、C 型肝炎の病因を考えるうえで興味を持たれた。

#### 7. Bipotential T/NK progenitor の形質を有する慢性骨髄性白血病細胞株樹立の試み

(第二病院・内科) 川内喜代隆・安山雅子・  
玉井美千子・大塚洋子・大川真一郎

多能性造血幹細胞からリンパ性幹細胞を経て B, T, NK 細胞に成熟分化するメカニズムは明らかではな