

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ション法にて導入し、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) 5×10^4 /well に作用させ、2 日間培養後、 ^3H -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- α 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- α 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

い。今回、我々は慢性骨髄性白血病 (CML) 患者末梢血からリンパ性前駆細胞と考えられる白血病細胞株の樹立を試みたので報告する。症例は67歳の女性で、白血球増加が出現し、Ph¹染色体を認め骨髄穿刺検査にて CML の診断を受けた。その後表在リンパ節腫大が出現し、リンパ生検でリンパ芽球性リンパ腫と診断された。末梢血に芽球が出現した1996年11月から20% FCS 加 RPMI1640 に浮遊し培養を開始した。培養細胞 (OM-1) は FACS 解析で CD2⁺CD7⁺⁺cyCD3⁺CD45⁺⁺CD56⁺CD38⁺⁺CD41⁺CD13⁺CD117⁺ HLA-DR⁺ の形質を示し、遺伝子解析では IgH, TCR の再構成を認めなかったことから bipotential T/NK progenitor (H. Spits: Blood 185, 1995) と考えられた。現在、細胞分化に対する各種サイトカインの効果を検討中である。

8. 炎症性筋疾患における細胞表面機能分子の発現 (膠原病リウマチ痛風センター) 杉浦智子

炎症性筋疾患患者 (多発性筋炎 9 例, 皮膚筋炎 3 例) 筋生検より得られた凍結切片を用いて免疫染色を行い、血管内皮上および筋細胞上の接着分子および co-stimulatory 分子である B7 の発現を検討した。

[結果] 血管内皮上の P-selectin, ICAM-1 は正常コントロールでも弱い発現がみられるが炎症刺激にて発現の増強がみられた。一方 E-selectin, VCAM-1 は正常では発現されず、血管炎を伴った例で誘導されていた。また炎症性筋炎においては筋細胞上に HLA-DR と共に ICAM-1, VCAM-1 などの接着分子が発現されており、筋細胞そのものがリガンドを発現する浸潤 T 細胞に何らかのシグナル伝達を行う可能性が示唆された。更に浸潤単核細胞に B7-1 (CD80), B7-2 (CD86) 分子の発現がみられ、リガンドである CTLA-4, CD28 を発現する細胞も同様の分布で観察された。このことより浸潤単核細胞による B7 分子を介する経路が炎症性筋炎の進展に関わる可能性が考えられた。

9. HBs 抗原特異的 T 細胞クローンの解析

(消化器内科) 鈴木智彦・

山口尚子・宮園裕子・春田郁子・

徳重克年・山内克巳・林 直諒

HBV キャリアーで認められる HBs 抗原特異的な免疫寛容性や HB ワクチンに対する非応答性において、HBs 抗原特異的抑制性 T 細胞が重要な役割を担っていることは今まで報告されてきた。今回は、この抑制性 T 細胞の役割をより詳細に解明することを目的として、HB ワクチンを接種した健常者の末梢血リンパ球を用いて、s 抗原特異的に反応する CD4ク

ローンとそれを抑制する CD8クローンを確立し、その TCR V β および産生するサイトカインを解析した。その結果、CD4クローンの TCR V β の解析では3つの違った V β をもつクローンが存在し、抑制的に働いた CD8クローンでは TCR V β 8 が存在していることが明らかとなった。また、それらの CD4クローンではいくつかのサイトカインの産生パターンを認め、抑制的に働いた CD8クローンでは γ IFN, IL-4, IL-10 のいずれの産生も認めた。

10. 炎症性筋疾患の発症、病態形成における HLA の意義

(¹膠原病リウマチ痛風センター, ²神経内科)

古谷武文¹・箱田雅之¹・樋上謙士¹・
上田寛之¹・堀場 恵²・柏崎禎夫¹

白人では、炎症性筋疾患と HLA-B8, -DR3 との関連が報告されている。しかし、日本人においては HLA-B8, -DR3 はまれな抗原である。また、日本人を対象とする HLA の検討は少数例での一報告のみである。そこで、日本人炎症性筋疾患における HLA との関連を明らかにすることを目的とした。対象は筋炎患者 84 例 (多発性筋炎 [PM] 22 例, 皮膚筋炎 [DM] 46 例, 他の膠原病に伴う筋炎 16 例 [強皮症 12 例, 全身性エリテマトーデス 4 例]) とした。コントロール群は、HLA-A, B, C, DQ 抗原については健常人および我々の施設の外来通院患者で炎症性リウマチ性疾患を有しない 58 例, HLA-DRB1 対立遺伝子のコントロール群は同様の 175 例を用いた。HLA 抗原型は A, B, C, DQ は血清法で、DRB1 遺伝子型は PCR-RFLP 法で解析した。Class I では、コントロール群に比し、筋炎群で HLA-B7 が有意に上昇し ($p=0.02$)、特に他の膠原病に伴う筋炎群において著明であった ($p=0.005$)。PM 群では、DM 群に比し、HLA-A24, B52 が有意に低率であり、一方 Cw3 は有意に高率であった。Class II では、コントロール群に比し、筋炎群で DR8 ($p=0.004$) および DQ1 抗原 ($p=0.024$) が有意に高率であった。以上より、Class II 遺伝子座が筋炎の発症に関連していること、Class I 遺伝子座が筋炎における異なった病型の形成に関与していることが示唆された。

11. ヒト CD4⁺T 細胞の成熟度の解析

(¹微生物学免疫学, ²心研・循環器小児外科)

今西健一¹・瀬尾和宏²・加藤秀人¹・

三好秋山 徹¹・張 瑞華¹・

高梨吉則²・今井康晴²・内山竹彦¹

$\alpha\beta$ 型 T 細胞は胸腺内において未熟な CD4⁺CD8⁻細