

(第二病院内科) 川内喜代隆・小笠原寿恵・安山雅子・大川真一郎

11. HLA-DR4アレルの進化から推定されるインスリン  
自己免疫症候群(平田病)の起源と分布

(糖尿病センター) 内瀧安子・大森安恵・岩本安彦

座長 山内克巳(消化器内科)

12. ベーチェット病のぶどう膜炎患者血清の可溶性 Fas および可溶性 Fas リガンド,  
末梢血単核球の Fas 発現に関する検討

(第二病院眼科) 小笠原勝則・末丸純子・助川祥一・  
氏原 弘・稲葉午朗・宮永嘉隆

13. 新しい T 細胞活性化マーカー, H4分子を表現する  
胸腺 T 細胞サブポピュレーションの解析

(<sup>1</sup>微生物学免疫学, <sup>2</sup>Univ. Torino, <sup>3</sup>歯科口腔外科)  
八木淳二<sup>1</sup>・Umberto Dianzani<sup>2</sup>・加藤秀人<sup>1</sup>・  
桂田友子<sup>1</sup>・岡本俊宏<sup>3</sup>・内山竹彦<sup>1</sup>

座長 今西健一(微生物学免疫学)

14. 温度応答性培養皿の開発とミクログリア細胞初代培養への応用

(<sup>1</sup>医用工学研究施設, <sup>2</sup>国立精神神経センター) 大和雅之<sup>1</sup>・高坂新一<sup>2</sup>・  
菊池明彦<sup>1</sup>・桜井靖久<sup>1</sup>・岡野光夫<sup>1</sup>

15. 免疫吸着療法における白血球の変動

(神経内科) 太田宏平・清水優子・植田美加・  
秋山尚子・岩田 誠

## 1. CD40分子の刺激による Dendritic Cell (DC) の抗腫瘍効果

(第二病院外科) 横溝 肇・  
加藤博之・遠藤俊吾・吉松和彦・  
橋本雅彦・小川健治・梶原哲郎

〔目的〕 dendritic cell (DC) には強力な抗原提示能  
と腫瘍免疫の誘導の効果が認められている。また DC  
の CD40分子を刺激することにより, IL-12の産生の増  
加や costimulatory 分子の発現の増加が認められる。  
そこで CD40分子を刺激した DC を用い, 抗腫瘍効果  
の増強を試みた。

〔方法〕 5週齢 Balb/c マウスおよび colon26 (C26)  
を用いた, CD40分子を刺激した DC の抗腫瘍効果を以  
下の3群を用いて検討した。A群: 不活化 C26と抗マ  
ウス CD40抗体投与した DC を混じ皮下接種。B群:  
不活性 C26と DC を混じ皮下接種。C群: 不活化 C26  
を皮下接種。3群とも day 0, 7, 14に計3回大腿皮  
下に接種した。その3群に day 21に C26を対側の  
大腿皮下に移植した。生着の有無は移植後28日目に  
判定した。更にそのマウスのリンパ球を用い, リン  
パ球腫瘍混合培養 (MLTC) を施行した。MLTC の2日目の上

清中の IL-2, IL-4, INF- $\gamma$  を ELISA 法で測定した。

〔結果〕 腫瘍生着率は A 群 0% (0/5), B 群 60% (3/  
5), C 群 80% (4/5) であった。MLTC でのサイトカ  
イン産生量は A 群, B 群の間に差はなかったが, C 群  
では低値であった。また A 群においては早期から抗腫  
瘍効果が観察された。

〔結語〕 CD40分子を刺激した DC は, より強力な抗腫  
瘍効果を示すと考えられる。

## 2. In vitro における HCV 感染実験

(消化器内科) 佐々木美希・  
鈴木智彦・山口尚子・徳重克年・  
山内克巳・林 直諒

C 型肝炎ウイルス (HCV) は慢性肝炎の主な原因  
virus の1つであるが, その病因や複製, 癌化のメカ  
ニズムは今だに不明な点が多い。今回我々はこれら  
の点を明らかにするためまず in vitro における HCV 感  
染系の確立を試みた。これまでの報告から HCV はヒ  
ト肝細胞だけでなく末梢血中リンパ球にも存在し,  
HTLV-1に感染した CD4陽性 cell line (MT-1, MT-  
2) は HCV 易感染性であることが明らかであるため,  
ヒト lymphoma や MT-1, MT-2 cell line を用いて in

vitro における HCV の感染実験を行った。方法は  $1 \times 10^6$  個の細胞あたり  $100 \mu\text{l}$  の HCV 陽性患者血清を入れ incubation したのち、培養細胞と上清より RNA を単離し、アンプリコア法で HCV-RNA assay を行う。用いたすべてのヒト lymphoma cell line において、培養初期には HCV-RNA が存在していた。MT-1 と MT-2 の場合、MT-2 の方がより高い感染性を示した。健常者由来の PHA-blast を用いた場合、HCV 陽性血清と incubate する時に PHA と IL-2 で刺激を加える場合とそうでない場合を比較すると、刺激を加えた方がより高い感染性を示すことが明らかとなった。同様に二人の健常者由来の PHA-blast を用いて行った場合、HCV 感染性に個人差があることが明らかとなった。今回我々はいくつかの cell line を用いて HCV 感染を試み、効率的に HCV が感染できる実験系をいくつか確立した。今後はこの実験系を用いて HCV の感染やその増殖の機序について検討を加える予定である。

### 3. 高感度化学発光 ELISA 法によるサイトカイン測定法の開発と応用

(衛生学公衆衛生学(一), \*同(二))

佐藤敏彦・鞠 超英・金子勝一・  
中館俊夫\*・香川 順

サイトカインは炎症、免疫、細胞の分化増殖などに関連する多彩な生物反応の発現に重要な役割を持つ物質であり、各種病態との関係についての研究がさまざまな分野において近年盛んに行われている。生体サンプル中のサイトカインの定量法にはバイオアッセイ法と ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法があるが、その簡便性から現在一般に広く行われているのは後者である。われわれは化学発光を標準 ELISA 法に取り入れた CL-ELISA 法を用いて各種の生体試料中のサイトカインの測定を行い、検討を重ねてきた。その結果、ほとんどのサイトカインで CL-ELISA 法は市販の ELISA キットに比較し感度が高かった ( $10 \sim 1,000$  倍)。現在までに測定した項目は、ヒト血清中の IL-2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, IFN- $\gamma$ , GM-CSF, 尿中の IL-4, 6, 8, 12, IFN- $\gamma$ , 関節液中の IL-4, 6, 8, 12, IFN- $\gamma$ , マウス血清中および BALF 中の IL-4, 5, 6, 10, 12, IFN- $\gamma$ , GM-CSF 等であり、いつかのサンプル、サイトカインにおいて測定下限以下のものが認められたが、ほとんどが測定可能であった。本測定法はコスト、測定感度の両面において、多くのサンプルを扱う疫学研究には特に有用と思われる。

### 4. IL-17 は慢性関節リウマチ患者の関節液および滑膜中に見出され、破骨細胞の分化を促進する

(<sup>1</sup>東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター, <sup>2</sup>昭和大学歯学部生化学, <sup>3</sup>東京女子医大第二病理) 小竹 茂<sup>1</sup>・宇田川信之<sup>2</sup>・  
高橋直之<sup>2</sup>・石山 茂<sup>3</sup>・斉藤聖二<sup>1</sup>・  
井上和彦<sup>1</sup>・鎌谷直之<sup>1</sup>・須田立雄<sup>2</sup>

今回、IL-17 の破骨細胞 (Oc) の分化誘導過程における役割、および RA 患者の関節破壊に対する関与を検討した。Oc の形成はマウスの共存培養系で rhIL-17 の効果を検討した。RA 43 例、変形性関節症 (OA) 9 例、外傷 4 例および痛風発作 7 例より関節液を得、IL-17 濃度を測定した。関節滑膜において抗ヒト IL-17 抗体を用いて IL-17 の発現について組織学的観察を行った。rhIL-17 は用量依存的に TRAP 陽性の多核細胞の形成を促進した。IL-17 の Oc 形成促進活性は Cox 2 の特異的阻害剤によって抑制された。関節液中の IL-17 濃度は OA 例に比し RA 患者の方が有意に高値で、RA 患者の滑膜には抗ヒト IL-17 抗体で染色される T 細胞が存在した。IL-17 は骨芽細胞様間質細胞に作用し PGE2 産生を増加させることによって Oc の分化を誘導し、RA 患者の関節において、IL-17 産生の過剰により Oc 形成が促進される可能性が示唆された。

### 5. 細菌性スーパー抗原 SEA 複数回投与マウスにおける CD4<sup>+</sup>T 細胞および CD8<sup>+</sup>T 細胞の反応

(微生物学免疫学) 張 瑞華・  
津田真由美・陳 露秋・今西健一・  
八木淳二・内山竹彦

SEA 応答性 CD4<sup>+</sup> と CD8<sup>+</sup>T 細胞 (V $\beta$ 3<sup>+</sup> と V $\beta$ 11<sup>+</sup>) の SEA 注射 2 日後の免疫状態を解析した。

〔方法〕マウス: C57BL/6,  $\beta$ 2m あるいは CD4 knock out C57BL/6. T 細胞の V $\beta$ 3 と V $\beta$ 11, IL-2R $\alpha$  (CD25) 表現, 血清 IL-2 活性を解析した。

〔結果〕SEA 注射 2 日後に T 細胞 (V $\beta$ 3<sup>+</sup> と V $\beta$ 11<sup>+</sup>) は 2 ~ 3 倍に増加し、4 ~ 5 日目に無処置群レベル以下に減少した。SEA 注射 2 日後に再注射すれば、V $\beta$ 3<sup>+</sup> と V $\beta$ 11<sup>+</sup>T 細胞は初注射後 4 日目にさらに増加した。この現象を CD4<sup>+</sup> とに分けて観察すると SEA 応答性 CD4<sup>+</sup>T 細胞は増加するが、CD8<sup>+</sup>T 細胞は減少した。同じ結果が  $\beta$ 2m および CD4 knock-out マウスでも観察された。SEA 再刺激で血清 IL-2 活性、CD25 発現のピークは初注射より早かった。

〔結論〕以上の結果より SEA 注射 2 日後の SEA 応答性 CD4<sup>+</sup>T 細胞は活性化状態であり、CD8<sup>+</sup>T 細胞は