

toxin A; SEA) 応答性に違いがあることを見出したので報告する。

新生仔マウス胸腺 CD4SPT 細胞の SEA 一次刺激による反応は、成マウスに比較し弱く、これまでの報告と一致した。成マウス脾臓、胸腺芽球化 CD4SPT 細胞の IL-2 産生は十分量産生されたが、生後 3 日目までの新生仔胸腺芽球化 CD4SPT 細胞は微量の産生を示した。IL-4 産生は成マウス脾臓由来芽球化 CD4SPT 細胞に比較し、成マウス胸腺由来芽球化 CD4SPT 細胞で高値を示し、新生仔マウス胸腺由来芽球化 CD4SPT 細胞はさらにより高い値を示した。

これらの結果より、CD4SPT 細胞の胸腺から末梢に移行後の成熟過程の存在と、また、日齢による応答性の違いが示唆された。

8. 成人発症 Still 病におけるサイトカイン、特に IL-18 の病態への関与

(膠原病リウマチ痛風センター) 寺嶋久恵・川口鎮司・原まさ子・鎌谷直之

〔目的〕成人発症 Still 病 (AOSD) は、原因不明の全身性炎症性疾患で、単核球由来のサイトカインが病態に関与していると推測される。今回我々は、AOSD の血清中サイトカイン濃度と疾患活動性との関連を検討した。

〔方法〕患者 8 例、健康人 20 例を対象とし、血清中 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-12、IL-18、INF- γ 、TNF- α を ELISA 法で測定した。炎症の指標として CRP およびフェリチンを用い種々のサイトカイン濃度と比較検討した。

〔結果〕AOSD 患者血清中 IL-6、IL-18 濃度は健康人と比較し優位に高値を示した。IL-18 は、健康人では測定感度 (12.5pg/ml) 以下であったのに対し、平均 26.5 ng/ml と異常高値であった。IL-18 は、CRP、フェリチンと同様、治療により低下が認められた。

〔考案〕AOSD では IL-1 が測定感度以下で、IL-18 は異常高値を示し、RA とは異なっていた。現在 IL-18 の AOSD の病態への関与を検討している。

9. 慢性骨髄性白血病細胞におけるチロシンキナーゼシグナルの検討

(第二病院内科) 小笠原寿恵・川内喜代隆・安山雅子・大川真一郎

〔目的〕慢性骨髄性白血病 (CML) では、90% 以上の症例で Ph 染色体異常が検出される。この染色体転座により融合遺伝子 BCR-ABL が形成され、その遺伝子産物 p210^{bc_r-abl} (major BCR) は強いチロシンキナー

ゼ活性を有し造腫瘍能を示すことから CML の原因遺伝子と考えられている。しかしながら、major BCR チロシンキナーゼによる mitogenic signal は充分明らかにされていない。我々は major BCR 下流のシグナル伝達を Ras-MAPK pathway を中心に検討した。

〔方法〕CML 由来細胞株 K562、CML 患者白血球細胞を使用した。K562 細胞を butyrate、TPA で処理し赤芽球系、巨核球系への分化を誘導した。免疫沈降、免疫ブロットは既報のごとく行った。Erk、JNK、p38 MAPK 活性は各々 Elk-1、c-Jun、ATF-2 を基質として in vitro kinase assay で検出した。

〔結果〕K562 細胞、CML 急性転化白血球細胞で major BCR に会合する複数のチロシンリン酸化蛋白が検出された。K562 細胞で rasGAP 関連蛋白 p190、p62 Dok のチロシンリン酸化を認め、Ras farnesyltransferase 阻害剤により細胞増殖が抑制されたことから major BCR のシグナルに Ras が関与していると推定された。また、JNK、p38 MAPK の構成的な活性化が認められ、これらが Ras 下流のシグナル伝達系と考えられた。一方、butyrate や TPA で分化誘導すると Erk 活性の誘導と JNK 活性の抑制が認められた。

〔結論〕Major BCR チロシンキナーゼのシグナル伝達には Ras-MAPK pathway が関与しており、mitogenic signal と differentiation signal は MAPK family の Erk と JNK のバランスにより制御されていると考えられた。

10. がんに対する活性化自己リンパ球移入療法

(第二病院外科) 小川健治・出口義雄・梶原哲郎・関根暉彬

当科では昨年 4 月より、がんに対する活性化自己リンパ球移入療法を行っている。方法は、患者末梢血から分離したリンパ球を OKT 固相化フラスコと IL-2 で活性化し、さらにガス透過性バッグで大量培養して用い、1 回投与量はリンパ球数で $1 \times 10^9 \sim 10^{10}$ 個 (100 ~ 150ml)、投与ルートは静脈内、胸腔や腹腔などの腔内または動脈内投与である。現在までに本療法を 12 回以上行った症例は 15 例である。がんの種類は多岐にわたるが、Stage VI の高度進行がんあるいは再発がん、化学療法や放射線治療で改善のなかった症例である。現在のところ、本療法で画像上の腫瘍縮小などはっきりした抗腫瘍効果は認められていない。しかし、20 回以上の長期投与例も 4 例あり、ほぼ半数の症例で QOL の改善や腫瘍マーカーの低下がみられている。今後、こうした症例を集積して検討し、エフェクター細

胞や投与ルートの工夫, 適応の確立などが必要と考えている。

11. ネフローゼ症候群のリンパ球における細胞内サイトカインの発現

(第四内科)

小池美菜子・

本田一穂・安藤 稔・内田啓子・

新田孝作・湯村和子・二瓶 宏

〔目的〕ネフローゼ症候群の免疫異常 (Th1-Th2 バランス) を解析するため, 末梢血リンパ球の細胞内サイトカインである IFN- γ と IL-4 の発現を検討した。

〔対象〕ネフローゼ症候群を呈する全身性エリテマトーデス 2 例と膜性腎症 2 例の治療前後を対象とした。

〔方法〕末梢血をヘパリン採血し Ficoll 上に重層し遠心し, 白血球層を採取した。PMA と Ionomycin そして Brefeldin A を加えて培養し凍結保存した。染色は, CD4-PC5 で細胞表面染色をしたのち細胞膜透過処理を行い, さらに IFN γ -FITC と IL4-PE で細胞内染色し flow cytometry で解析した。

〔結果〕健常者 (n=4) は, IFN- γ 14.56 \pm 2.19%, IL-4 1.66 \pm 1.07%, 共陽性は 0.44 \pm 0.32% であった。SLE は, 治療後に IFN- γ と IL-4 の発現率が増加し, 膜性腎症は, 治療前・後ともに IFN- γ と IL-4 の発現率が健常者と同程度であった。

12. HIV/AIDS 患者におけるケモカインレセプターの発現

(¹)中央検査部輸血科, (²)同 臨床検査科

免疫血清検査室)

長田広司¹⁾²⁾・

高橋純生¹⁾・森本牧子²⁾・清水 勝¹⁾²⁾

HIV/AIDS の病期とケモカインレセプター (CCR5, CXCR4) の関係を知るために無徴候性 HIV 感染例, AIDS 患者 (UCD) の CD4 上の CCR5 と CXCR4 の発現を flow cytometry で検討したところ, CCR5/CD4 は HIV/AIDS 患者では健常者に比べ有意に上昇していたが (29.0 vs 19.4%), CXCR4/CD4 では有意に減少していた。CCR5/CD4 と HIV RNA Viralload とは正の相関を, CD4⁺T 細胞数とは負の相関を示し, CD4⁺T 細胞数が 300 以下と 500 以上での CCR5/CD4 は有意差が認められたが, CXCR4/CD4 では相関がなかった。CCR5/CD4 と HIV 感染の進行度との有意な関係が判明したが, CCR5 の高い発現率は病期 (晩期) の結果か, あるいは病態の進行に影響を与えるのか, また CXCR4 の発現の評価について検討の必要がある。

13. 強皮症発症要因としてのマイクロキメリズムの検討

(膠原病リウマチ痛風センター)市川奈緒美・

小竹 茂・箱田雅之・鎌谷直之

〔目的〕慢性移植片対宿主病 (GVHD) の臨床症状は強皮症と類似する点があり, 近年欧米では強皮症においてマイクロキメリズムの存在が発症に関与していることが, 示唆されている。昨年私達はコントロール群に比べ患者群でマイクロキメリズムの存在が多い傾向を認め, 報告した。今回はマイクロキメリズムを定量する系を確立し, 比較検討を試みた。

〔対象と方法〕男性ゲノム DNA と女性ゲノム DNA を種々の割合で混合し, Y 染色体特異的遺伝子を指標とした nested PCR を行ない, 検量線を作製した。当センターに通院中の男児出産歴のある強皮症患者 20 例, コントロール 20 例の末梢血より DNA を抽出し Y 染色体の定量を行なった。

〔結果および結論〕患者群では 20 例中 8 例に, コントロール群では 20 例中 6 例にマイクロキメリズムの存在を認めた。定量の結果においても, 双方に統計学的有意差を認めなかった。しかし患者群の一部で比較的高濃度のマイクロキメリズムを認めた。

14. TCR V β エLEMENT は T 細胞のスーパー抗原応答性だけでなく活性化後の増幅の大小をも決定する (微生物学免疫学)

陳 露秋・八木淳二・今西健一・

小柳 円・加藤秀人・内山竹彦

スーパー抗原, 黄色ブドウ球菌腸管毒 (staphylococcal enterotoxin A, SEA) や *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen (YPM) を浸透圧ポンプに充填し, マウスに埋設して, 応答性 T 細胞の運命を解析した。SEA 応答性 T 細胞のうち, V β 3⁺CD4⁺T 細胞は長期間, 高レベルの増幅を示し, V β 3⁺CD8⁺T 細胞と V β 11⁺CD8⁺T 細胞は一過性の増幅を示した。V β 11⁺CD4⁺T 細胞はこれらの中間の増幅を示した。YPM 応答性 T 細胞では, V β 7⁺CD4⁺T 細胞のみが長期間の高度の増幅を示し, 他の応答性 T 細胞, V β 7⁺CD8⁺T 細胞, V β 8⁺CD4⁺T 細胞, V β 8⁺CD8⁺T 細胞は一過性の増幅を示した。

本研究は, スーパー抗原応答性 T 細胞のスーパー抗原応答性は, T 細胞の受容体 V β エLEMENT と細胞サブセットに依存していることを示している。