

抄 録

第3回中国研究皮膚科セミナー

日時：平成19年11月10日（土）16：30～19：15

11日（日） 9：00～10：50

場所：グランドプリンスホテル広島2階「瀬戸内」

共催：中国研究皮膚科セミナー

協和発酵工業株式会社

研究発表

座長 山口大学大学院医学系研究科

上皮情報解析医科学領域皮膚科学

准教授 森田和政 先生

1. HPV-33による皮膚の癌化における遺伝子発現の変化

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

皮膚・粘膜・結合織学

○中西 元

Human papillomavirus (HPV) 感染における癌化メカニズムは子宮頸癌の研究によって明らかにされてきた。しかしながら、皮膚におけるHPV感染による癌化のメカニズムについては、子宮頸癌の癌化過程と同一かどうかを含めて未だよく分かっていない。我々は、皮膚におけるHPV感染による癌化メカニズムを解明するため、骨髄異形成症候群の患者に生じたHPV 33型陽性の疣贅とBowen病の組織を比較検討した。

近年、子宮頸癌のHPVの発癌過程におけるシグナル伝達経路としてNotchシグナルやWntシグナルの関与が報告されている。そこで、まず、我々はそれらのシグナル伝達について上記の組織を用いて検討した。受容体であるNotch-1及びリガンドであるJagged-1の発現を免疫組織化学とwestern blotを用いて、正常部とBowen病について調べたが、大きな相違はみられなかった。次に、 β -cateninとE-cadherinについて免疫組織化学的に検討したところ、正常部、疣贅では細胞膜に明瞭に発現している

一方で、Bowen病では細胞膜の発現はきわめて不明瞭となっていた。さらに、 β -cateninとE-cadherinの結合及びNotchシグナルの活性化、両方に重要とされるpresenilin-1の発現を調べたところ、Bowen病の部では著しい発現低下を認めた。

また、我々はcDNA microarrayを用いて網羅的に遺伝子の発現を検討した。予想されたように、PCNAなどのcell cycleに関連した遺伝子の発現の相違、角化に関連した遺伝子の発現の相違などが確認された。また、皮膚での発現が詳しく検討されていない遺伝子についても差がみられ、疣贅あるいはBowen病の病態形成には種々の遺伝子の発現が関わっていることが分かった。

2. 珪肺症例末梢血CD4+25+分画における慢性活性化T細胞の混入とFas分子発現

川崎医科大学 衛生学教室¹⁾、同 皮膚科学教室²⁾○林 宏明^{1, 2)}、前田 恵¹⁾、村上周子¹⁾、西村泰光¹⁾、大槻剛巳¹⁾、藤本 亘²⁾

珪酸 (SiO₂) 暴露を受けている珪肺症例では、呼吸器障害のみならず、自己免疫疾患の合併が知られている。当教室では、珪肺症に合併する自己免疫異常の病態を検討する目的でリンパ球のアポトーシスに関連が深いFas受容体とその関連分子の異常について報告してきた。

CD4+25+FoxP3+制御性T細胞 (Treg) が、自己寛容維持に重要な役割を有することが知られてきた。今回、珪肺症例でのCD4+25+Tregの数、機能、遺伝子発現等の解析を行った。CD4+25+Tregの特異的発現機能遺伝子であるFoxP3の発現が、健常人では、CD4+25+分画で高発現、CD4+25-分画で極めて低発現なのに比し、珪肺症例ではCD4+25+分画でも、CD4+25-分画と同程度に低発現であった。活性化T細胞では発現しているが、CD4+25+Treg細胞では発現していないPD-1 (programmed death 1) 遺伝子の発現を、珪肺症例と健常人の末梢血単核球をCD4+25+分画とCD4+25-分画において検討した。結果、健常人ではどちらの分画でも非常に低発現であったが、珪肺症例では、CD4+25-分画でも健常人より高度に、CD4+25+分画では更に高度な発現が認められた。

また、CD4+FoxP3+分画のFasの発現は珪肺症例において健常人に比し高発現の度合いが高かった。これらの結果より、珪肺症例のCD4+25+分画には珪酸曝露に伴う慢性活性化T細胞が混入し、および珪肺症例の制御性T細胞では、Fas発現が高く容易にアポトーシスに至る可能性が示唆された。その結果CD4+FoxP3+Tregを置換、CD4+25+分画の機能の減衰をもたらして自己寛容の破綻を招いている可能性が高いと考えられた。

3. 新しい細胞機能評価法：表面プラズモン共鳴シグナルと細胞内シグナル伝達系との関係

広島大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学

○平郡隆明, 田中麻衣子, 筒井智子, 柳瀬雄輝,
鈴木秀規, 秀道広

表面プラズモン共鳴 (Surface plasmon resonance: SPR) バイオセンサーは、抗原-抗体、リガンド-受容体などの結合を計測することに広く用いられている。我々は、SPRバイオセンサーを用いて金属板上の細胞の活性化を無標識・リアルタイムに検出できることを見出したが、SPRシグナルがどのような細胞内シグナルを反映しているかについては未だ明らかになっていない。今回我々は、RBL-2H3マスト細胞を用いて抗原刺激によるシグナル伝達とSPRシグナルとの関連について検討を行った。RBL-2H3細胞に優性阻害剤Syk, LATまたはGadsを過剰発現させて、これら比較的上流に位置するシグナル伝達分子の活性化を抑制すると、抗原刺激によるSPRシグナルは著明に減弱した。その下流のシグナルについては、SPRシグナルがPMAによっても惹起されることを踏まえ、PMAの直接標的分子であるPKCについて検討した。PKC β 以外のPKC isoformをRBL細胞に過剰発現させると抗原刺激によるSPRシグナルは逆に減弱した。一方、唯一SPRシグナルを阻害しないPKC β に対する特異的siRNAを発現させると、SPRシグナルの減弱が認められ、抗原刺激によるマスト細胞のSPRシグナルはPKC β の活性化に依存することが明らかとなった。

4. マラセチアをモデルとしたヒト表皮における微生物との相互作用の解析

山口大学大学院医学系研究科

上皮情報解析医科学領域皮膚科学分野

○高畑ゆみ子, 山口道也, 中村好貴, 根本圭,
森田和政, 武藤正彦

*Malassezia*は皮膚の常在真菌であるが、癬風の原因菌や、アトピー性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、および乾癬の増悪因子としても知られている。1996年より以前には、*Malassezia*属の菌は、*M. furfur*の1菌種のみが存在すると考えられていたが、近年の分子生物学的な手技を用いた菌種の同定により、現在までに13菌種が存在することが報告されている。

そのうち、動物由来の2菌種を除いた9菌種について、各種皮膚疾患患者および健常人の菌叢の定性的な検討がなされ、*M. restricta*および*M. globosa*は、ほぼ100%の患者および健常人より検出され、それ以外の菌種の検出率は40%以下であったと報告されており、*M. globosa*と*M. restricta*が主要構成菌種とされている。

今回我々は、現在までに乾癬およびアトピー性皮膚炎患者において、患者の鱗屑より直接真菌のDNAを抽出し、TaqMan probeを用いたreal-time PCRを用いて、鱗屑中の*Malassezia*全量および主要構成菌種である*M. restricta*および*M. globosa*を定量した。その結果、*M. restricta*および*M. globosa*は、ほぼ全例から検出され、頭頸部および体幹が四肢に比べて10~40倍菌量が多かった。また、疾患別にみると、乾癬患者では、*M. restricta*の方が*M. globosa*よりも約5倍多く定着しており、一方アトピー性皮膚炎患者では、*M. restricta*と*M. globosa*はほぼ同量定着していた。このように、定性的にみると、*Malassezia*叢は、疾患に関わらず一定であるにもかかわらず、定量的には、疾患により異なっていることが判った。また、患者背景について検討してみると、乾癬患者では、高脂血症患者と比較して、正脂血症患者において量的に*Malassezia*が多かった ($p < 0.05$)。以上より、特に正脂血症の乾癬患者で、通常の治療に難治な症例に対しては、抗真菌剤が有効である可能性が示唆された。

本研究は、明治薬科大学微生物学教室 杉田隆講師との共同研究として行われたものです。

学術情報提供

「糖鎖制御による次世代抗体医薬の開発」

協和発酵工業株式会社 医薬研究センター
抗体研究所 研究所長 佐藤 光男

教育講演

座長 川崎医科大学皮膚科 教授 藤本 亘 先生

「乾癬と薬理遺伝学」

山口大学大学院医学系研究科
上皮情報解析医科学領域皮膚科学
教授 武藤正彦 先生

特別講演

座長 山口大学大学院医学系研究科
上皮情報解析医科学領域皮膚科学
教授 武藤正彦 先生

「樹状細胞から放出されるドパミンによる

T細胞応答の制御」

埼玉医科大学 免疫学講座 教授 松下 祥 先生