

抄 録

第8回中国研究皮膚科セミナー

日時：平成24年11月17日（土）15：45～18：40

場所：岡山コンベンションセンター 4階
405会議室

共催：中国研究皮膚科セミナー
協和発酵キリン株式会社

情報提供

協和発酵キリン株式会社

研究発表1

座長 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学
助教 藤井一恭 先生

1. 神経線維腫症1型（NF1）では血清melanoma inhibitory activity（MIA）が上昇するのか？

鳥取大学 皮膚科

○吉田雄一, 山元 修

神経線維腫症1型（neurofibromatosis type 1；NF1）は遺伝性の疾患であるが、その症状は同一家系内であっても個人差が大きい。また、genotypeとphenotypeとの一致は基本的にはないので、将来的な重症度を遺伝子変異により予測することはできない。NF1ではときに腹腔内に多数のnodular plexiform neurofibromaやmalignant peripheral nerve sheath tumorを発症することがあり、我々はNF1に有用な血清マーカーはないものかと考えていた。

Melanoma inhibitory activity（MIA）は悪性黒色腫の腫瘍細胞で発現がみられ、進行期悪性黒色腫の腫瘍マーカーとして一般的に用いられている。興味深いことに本邦においてNF1では血清MIAが高値を示したという報告がみられた（猪爪ら。Skin Cancer 20：89-92, 2005）。そこで我々は、25名のNF1患者において検討を行った。その結果、①NF1

では血清MIAと5-S-cysteinyldopa（5-S-CD）が健康人に比較して有意に上昇していること、②血清MIAは被験者の年齢と逆相関すること、③血清MIAは5-S-CDと相関することが分かった。しかしながら、MIA値と臨床症状（神経線維腫の種類や数）との関連はみられなかった。

我々はNF1の異常によりメラノサイトに潜在的異常が生じ、MIAの発現が亢進しているのではないかと考え、正常ヒトメラノサイト培養細胞に対して、レンチウイルスmiR RNAiを用いてNF1ノックダウンを行い、Western blotおよびELISA法にてMIAの定量を行ったが、MIAの発現上昇はみられなかった。また、免疫組織化学染色においても、NF1のカフェ・オ・レ斑部メラノサイトでのMIAの発現は見られなかった。一方、神経線維腫内には多数のMIA陽性細胞がみられ、二重染色ではMIAは肥満細胞に発現されていた。RT-PCRではNF1の健常部皮膚（神経線維腫のない部位）と比較し、神経線維腫ではMIAの発現が亢進していた。以上の結果から、NF1において血清MIAが上昇する要因として、肥満細胞の関与が示唆された。しかしながら、NF1の病態に関するMIAの意義についてはいまだ不明である。

2. 遺伝性血管性浮腫と血液凝固系との関連

広島大学大学院医歯薬保健学研究院皮膚科学

○森桶 聡, 岩本和真, 柳瀬雄輝, 秀 道広

【背景】 遺伝性血管性浮腫は、C1インヒビターの機能不全または欠如を基盤として、外傷、抜歯、過労などの外的刺激を誘因に重篤な浮腫の発作が出現する疾患である。近年、慢性蕁麻疹や遺伝性血管性浮腫の病態や病勢に血液凝固異常が関与しており、蕁麻疹の膨疹部に浸潤した好酸球には凝固外因系のトリガーであるTissue Factor（TF）の発現が亢進していることが報告されている。しかし、血管内における血液凝固反応開始の詳細な機序や、蕁麻疹の膨疹形成、血管性浮腫の浮腫形成に至る機序はいまだ十分に明らかにされていない。我々は、健康人の末梢血単核球（PBMC）を用いた予備的検討で、抗IgE抗体または抗原刺激によって単球におけるTFの発現が誘導されることを見出した。そこで、病勢

と並行して血液凝固系マーカーのひとつであるD-dimerが変動する遺伝性血管性浮腫症例における、単球のTissue Factorの発現について検討を行った。

【方法】病歴，臨床所見，遺伝子解析で遺伝性血管性浮腫と確定診断された37歳女性患者から，血管性浮腫の発作出現前後に採血を行い，末梢血よりCD14陽性の単球を分離し，フローサイトメトリーでTFの発現を測定した。

【結果】明らかな誘因がなく血管性浮腫の発作が出現した後は，単球におけるTFの発現が亢進し，浮腫の程度やD-dimerの数値と並行して低下した。

【結論】遺伝性血管性浮腫では，単球表面上にTFが発現することで，血液凝固外因系を駆動し浮腫の発作が起こる可能性がある。また，その発現は病勢に並行して変動することが示唆された。

研究発表2

座長 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学
助教 森実 真 先生

3. New Antifungal Protein and Its Acting Mechanism

Department of Dermatology, Shimane University Faculty of Medicine, Izumo, Japan¹⁾,
Department of Dermatology, University Hospital Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Kiel, Germany²⁾,

Department of Anatomy, Shimane University Faculty of Medicine, Izumo, Japan³⁾

○K Hein¹⁾, H Takahashi¹⁾, J Schroeder²⁾,

T. Tsumori³⁾, E Morita¹⁾

The skin is always in contact with infectious fungi, like dermatophytes. Healthy human skin is resistant against dermatophyte infections. And psoriatic skin lesions do not show dermatophyte infections. We hypothesized the presence of an antifungal factor in human skin. Because of its rigid and immunoinhibitory cell wall, *T. rubrum* is resistant against the antimicrobial proteins (AMPs) recently isolated from human skin such

as human β -defensins (HBDs) and the cathelicidin LL-37. Here, we isolated a new antifungal protein and investigated its mechanisms of fungus-killing activity in human skin. As a source for isolation of skin-derived antimicrobial proteins, we collected the stratum corneum (scales) from psoriatic patients, atopic dermatitis patients and healthy subjects. The protein extracts from each purification step were tested *T. rubrum*-killing activity in microbroth dilution antifungal assay. Since the psoriatic scale extracts showed the most potent antifungal activity against *T. rubrum*, the fungus-specific antimicrobial protein was subsequently purified from psoriatic scale extract. The finally isolated protein was identified as a reduced form of S100 Ca²⁺-binding protein A7 (S100A7) or psoriasin. Upon ultrastructural analyses, chromatin condensations, dilatation of nucleus membrane and electron dense depositions in the cytoplasm and the mitochondria were detected in reduced Psoriasin-treated *T. rubrum* by transmission electron microscopy. Reduced Psoriasin was also found to contain antifungal activity against other dermatophyte species such as *T. mentagrophytes* and *M. canis*. The MIC₉₅ of psoriasin was 2 μ M for all tested dermatophyte fungi in vitro. In conclusion, we report a protein with strong antifungal activity isolated from psoriatic scales, which probably plays a key role in protecting human skin from fungal infections.

4. ヘルペスウイルス感染に伴うウイルス側・宿主側からみた免疫回避・誘導のメカニズム

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学¹⁾,
川崎医科大学 皮膚科学²⁾,
Medical Virology Section, Laboratory of
Infectious Diseases, National Institute of
Allergy and Infectious Diseases, National
Institutes of Health³⁾

○山本剛伸¹⁻³⁾, Jeffrey I Cohen³⁾, 三宅智子¹⁾,
平井陽至¹⁾, 藤本 亘²⁾, 岩月啓氏¹⁾

HSV, VZV感染症は皮膚に水疱を形成する代表的な疾患である。病変部ではウイルス感染によるsyncytia形成（巨細胞）がみられ、その周囲に多数の炎症細胞浸潤をきたす。つまり、ウイルス側要因と宿主側要因の絶妙なバランスにより病変が形成されることが考えられる。

ウイルス側観点から、いかに効率よくウイルス複製を起こしているか、アポトーシスを回避する環境を形成しているか証明するために、ウイルス感染に伴う細胞内シグナルの解析をin vitroで培養細胞を用いて検討した。その結果、HSV感染により二本鎖DNA損傷（DSBs）シグナルが誘導され（ATM・H2AXのリン酸化）、このシグナルがHSV複製に必要である。しかし、途中で阻害され、cleaved caspase3は検出されずアポトーシスに至らない。VZV感染では効率的なウイルス複製を得るためにDSBsシグナルの誘導自体を阻害し、アポトーシスを抑制することが証明された。

ヘルペス性水疱の進行を防御する細胞-分子メカニズムを立証するために、健常人と免疫不全者両群の細胞傷害性T細胞（CTL）機能とアポトーシス誘導因子につき病変部組織を用いて比較検討を行った。その結果、健常人のほうが炎症細胞浸潤をきたしやすく、構成する細胞はCTLが主体であった。遺伝子発現解析で、免疫不全者はアポトーシスの機構不全（特にBax/Bcl-2, Fas/FasL）をきたすことが示唆された。TUNEL法で病変部のアポトーシスを確認したところ、一部の巨細胞に陽性を示した。

以上のことよりHSV, VZVはウイルス複製を効率よく行うために、ウイルス粒子を産生するまではアポトーシスを起こさないようにDSBsシグナルをう

まく調節している。免疫不全状態では、アポトーシス誘導因子およびCTL関連細胞傷害性分子の発現低下により病変の拡大や難治性をきたすことが考えられた。

特別講演

座長 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学
教授 岩月啓氏 先生

「ペア型レセプターを介した

ヘルペスウイルス感染機構」

大阪大学免疫学フロンティア研究センター
免疫化学研究室

教授 荒瀬 尚 先生