

た。

3. CAWS 27-(-) 200  $\mu$ g/mouse を ICR マウスに尾静脈投与すると、アナフィラキシー様ショックによる急性致死がみられる。そこで、培養条件の異なる CAWS について急性致死活性を検討した。その結果、CAWS 27-5.2 は急性致死活性が弱いことが明らかになった (Table 3)。

4. CAWS 27-(-) の急性致死活性は、CAWS 投与前に致死量以下の CAWS 27-(-) を投与することによって抑制されることが明らかとなっている。そこで、培養条件の異なる CAWS について急性致死活性に対するアンタゴニスト効果を検討した。その結果、CAWS 27-5.2 は急性致死活性に対するアンタゴニスト効果が弱いことが明らかになった (Table 4)。

5. CAWS 27-(-) を DBA/2 マウスに 5 連日 4 mg/mouse 腹腔内投与すると、大動脈、および冠状動脈起始部に血管炎が惹起される。そこで、培養条件の異なる CAWS について血管炎誘発活性を検討した。その結果、CAWS 27-5.2 は血管炎誘発活性が弱いことが明らかになった (Fig. 3)。さらに、血管炎誘発プロトコール中に起こる致死活性についても、CAWS 27-5.2 は活性が弱いことが明らかになった (Fig. 4)。

#### D. 考察

培養時の pH は、CAWS の収量や糖組成、構造に影響を与えることが明らかとなった。その結果として、CAWS 27-5.2 は急性致死毒性をはじめ、血管炎惹起能や生存率の検討において、他の CAWS とは異なる生理活性を示したと考えられた。

培養条件は様々な合成酵素や分解酵素の発現、及び活性に影響する可能性がある。その結果として異なる構造を持った CAWS が細胞壁から放出されたと推察された。

#### E. 結論

真菌細胞壁は菌の生存に不可欠な成分であり、その構造は病原性との関連からも重要である。培養条件は様々な合成酵素や分解酵素の発現、及び活性に影響する可能性があり、結果として異なる構造を持った細胞壁が形成される。CAWS は菌体から放出される画分であり、その産生メカニズムはさらに複雑であると思われる。本研究では、CAWS の物性に、培養時の温度と pH の双方が影響し、その結果、生理活性の異なる CAWS を得ることができた。また、培養条件によって菌体外多糖である CAWS の構成糖の比率が変化することは、深在性真菌症患者血中に  $\beta$ -glucan が検出されるという面からも重要であると思われる。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Naohito Ohno, Murine Model of Kawasaki Disease Induced by Mannoprotein- $\beta$ -Glucan Complex, CAWS, Obtained from *Candida albicans*, *Jpn. J. Infect. Dis.*, **57**, 9-10 (2004)

2) Noriko N. Miura, Yuko Shingo, Yoshiyuki Adachi, Akiko I. Okawara, Toshiaki Oharaseki, Kei Takahashi, Shiro Naoe, Kazuo Suzuki, and Naohito Ohno, Induction of Coronary Arteritis with Administration of CAWS (*Candida albicans* Water-Soluble Fraction) Depending on Mouse Strains, *Immunopharm. and Immunotoxic.*, **26**, 527-543 (2004)

(3) Ken-ichi Ishibashi, Noriko N. Miura, Yoshiyuki Adachi, Norihiko Ogura, Hiroshi Tamura, Shigenori Tanaka, and Naohito Ohno, DNA Array Analysis of Altered Gene Expression in Human Leukocytes Stimulated with Soluble and Particulate Forms of *Candida* Cell Wall  $\beta$ -Glucan, *Int. Immunopharmacol.*, **4**, 387-401

(2004)

(4) Toshie Harada, Noriko N. Miura, Yoshiyuki Adachi, Mitsuhiro Nakajima, Toshiro Yadomae, and Naohito Ohno, Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Regulates Cytokine Induction by 1,3- $\beta$ -D-Glucan SCG in DBA/2 Mice In Vitro, *J. Interferon Cytokine Res.*, **24**, 478-489

## 2. 学会発表

(1) 大野 尚仁, *Candida* 菌体外多糖画分 CAWS の物性と活性, 生体防御機能異常ワークショップ2004 第7回肝臓生物学研究会 合同年会, 沖縄, 2004

(2) 大野 尚仁, 真菌 $\beta$ グルカンをめぐる最近の話題, 第48回 日本医真菌学会総会, 横浜, 2004

(3) N. Ohno, Murine model of Kawasaki disease induced by mannoprotein- $\beta$ -glucan complex, CAWS, obtained from *Candida albicans*, The 4th International Peroxidase Meeting Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Kyoto, Japan, 2004

(4) H. Shinohara, K. Ishibashi, T. Harada, N. N. Miura, Y. Adachi, and N. Ohno, Antibody response in mice to fungal angitis inducer CAWS, *Candida albicans* water-soluble mannoprotein- $\beta$ -glucan complex, The 4th International Peroxidase Meeting Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Kyoto, Japan, 2004

(5) R. Tada, N. N. Miura, Y. Adachi, and N. Ohno, Comparison of fungal vasculitis inducer CAWS from *Candida albicans* with bacterial lipopolysaccharide from *Escherichia coli* O9, The 4th International Peroxidase Meeting Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Kyoto, Japan, 2004

(6) N. N. Miura, Y. Shingo, Y. Adachi, and N.

Ohno, Lethal toxicity of fungal vasculitis inducer CAWS, water soluble mannoprotein- $\beta$ -glucan complex of *Candida albicans*, in mice, The 4th International Peroxidase Meeting Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Kyoto, Japan, 2004

(7) H. Sankawa, Y. Kameoka, N. Miura, N. Ohno, and K. Suzuki, Gene expression in splenocyte response to CAWS injection of two murine strains, The 4th International Peroxidase Meeting Joint with the 10th Myeloperoxidase Meeting, Kyoto, Japan, 2004

(8) 三川 浩輝, 亀岡 洋祐, 三浦 典子, 大野 尚仁, 鈴木 和男, cDNAマイクロアレイによる血管炎惹起物質 *C. albicans* 由来菌体外多糖, 第34回日本免疫学会総会・学術集会, 北海道, 2004

(9) 三川 浩輝, 亀岡 洋祐, 三浦 典子, 大野 尚仁, 鈴木 和男, cDNA マイクロアレイ解析による血管炎に關与する炎症性分子の遺伝子発現, 第27回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004

(10) N. Ohno, Strain specificity of CAWS-induced coronary arteritis, International Symposium on Therapeutic Strategy to the Best Advantage of Collaboration between Basic Research and Clinical Research, Tokyo, Japan, 2004

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

Table 1 Effect of culture condition on yield and some properties of CAWS

	Yield (mg/L)	C (%)	H (%)	N (%)	Carbohydrate (%)	Protein (%)	Endotoxin (ng/mg)
CAWS 27-(-)	147 ± 30	30.1 ± 2.7	5.5 ± 0.4	1.6 ± 0.3	53	5.8	0.68 ± 0.55
CAWS 27-2.3	132 ± 19	27.5 ± 4.7	5.0 ± 0.7	1.6 ± 0.1	21 ± 7	8.2 ± 0.5	0.25 ± 0.10
CAWS 27-5.2	247 ± 26	28.6 ± 3.5	5.2 ± 0.4	2.8 ± 0.3	39 ± 9	10.1 ± 0.4	0.33 ± 0.45
CAWS 37-(-)	84 ± 33	26.5 ± 1.8	4.8 ± 0.4	1.1 ± 0.1	17 ± 3	5.8 ± 0.4	0.03 ± 0.02
CAWS 37-2.3	160 ± 17	18.5 ± 9.1	3.7 ± 1.5	1.1 ± 0.2	48 ± 4	5.8 ± 1.4	ND
CAWS 37-5.2	255 ± 87	20.3 ± 2.7	4.0 ± 0.7	0.9 ± 0.2	45 ± 17	3.0 ± 0.7	0.10 ± 0.03

Table 2 Effect of culture condition on reactivity of factor sera to CAWS

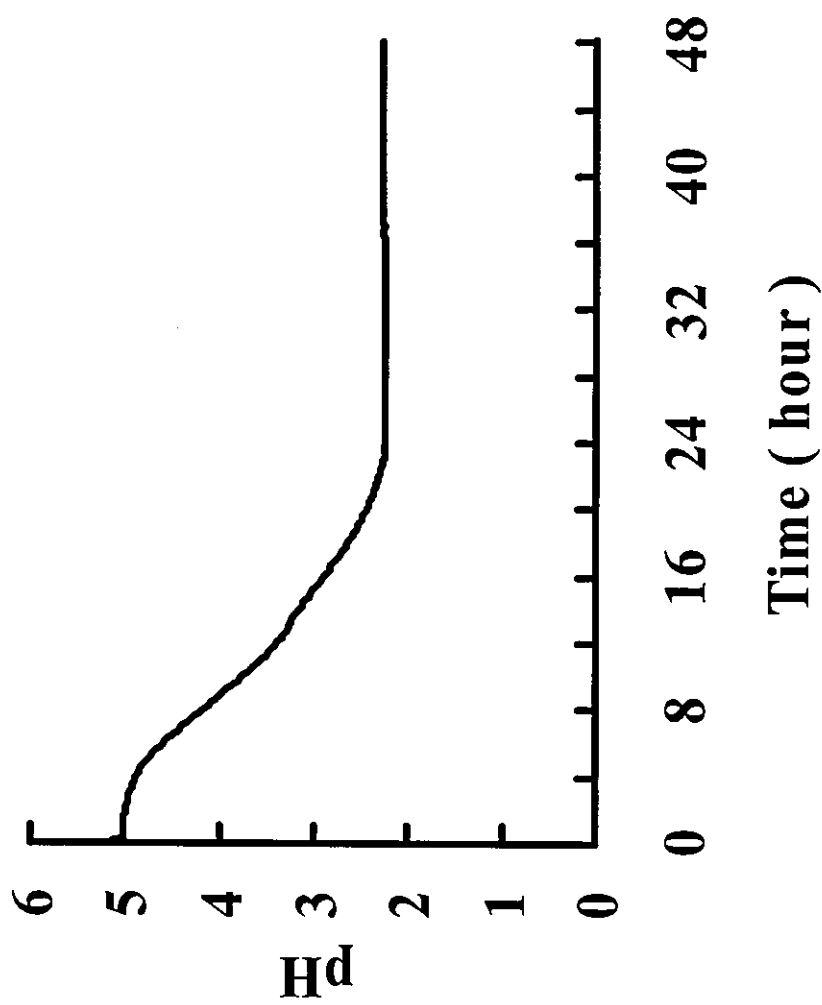
	No.1	No.4	No.5	No.6	No.8	No.9	No.11	No.13b	No.13	No.34
CAWS 27-(-)	O	Δ	Δ	Δ	O	Δ	O	O	O	O
CAWS 27-2.3	O	Δ	Δ	Δ	O	Δ	O	O	O	O
CAWS 27-5.2	O	O	O	O	O	Δ	×	×	×	O
CAWS 37-(-)	O	×	×	×	O	O	O	O	O	O
CAWS 37-2.3	O	×	×	×	O	O	O	O	O	O
CAWS 37-5.2	O	Δ	×	Δ	O	O	O	O	O	O

Table 3 Effect of culture condition on lethal toxicity induced by CAWS

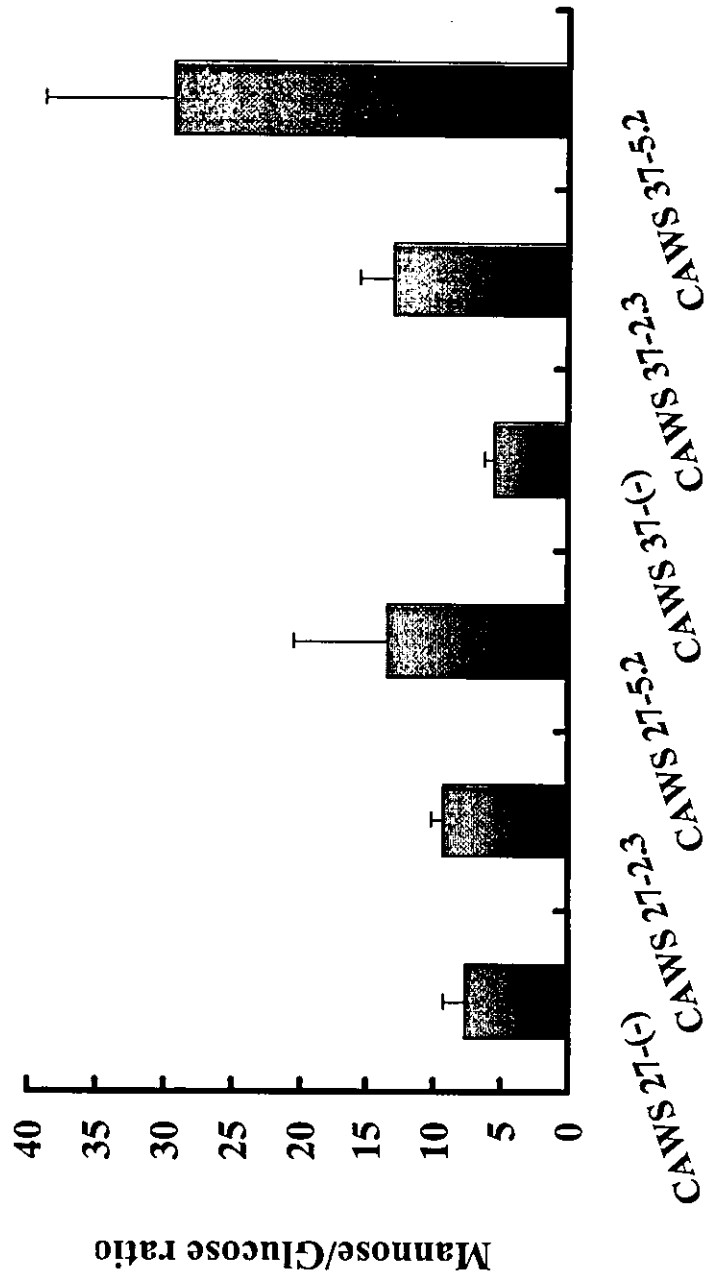
	3200 µg	800 µg	200 µg	50 µg	12.5 µg
CAWS 27-(-)	-	-	3/3	0/3	-
CAWS 27-2.3	-	-	3/3	0/3	-
CAWS 27-5.2	2/3	0/3	0/3	-	-
CAWS 37-(-)	-	-	2/3	1/3	0/3
CAWS 37-2.3	-	-	3/3	1/3	0/3
CAWS 37-5.2	-	-	2/3	0/3	-

Table 4 Effect of culture condition on antagonistic activity of CAWS

	64 µg	16 µg	4 µg	1 µg
CAWS 27-(-)	-	2/3	0/3	-
CAWS 27-2.3	-	3/3	1/3	1/3
CAWS 27-5.2	3/3	1/3	1/3	-
CAWS 27-7.0	1/3	0/3	-	-



**Fig. 1** Acidification of culture media during cultivation of *C. albicans* at 27 °C



**Fig. 2 Effect of culture condition on Mannose/Glucose ratio of CAWS**



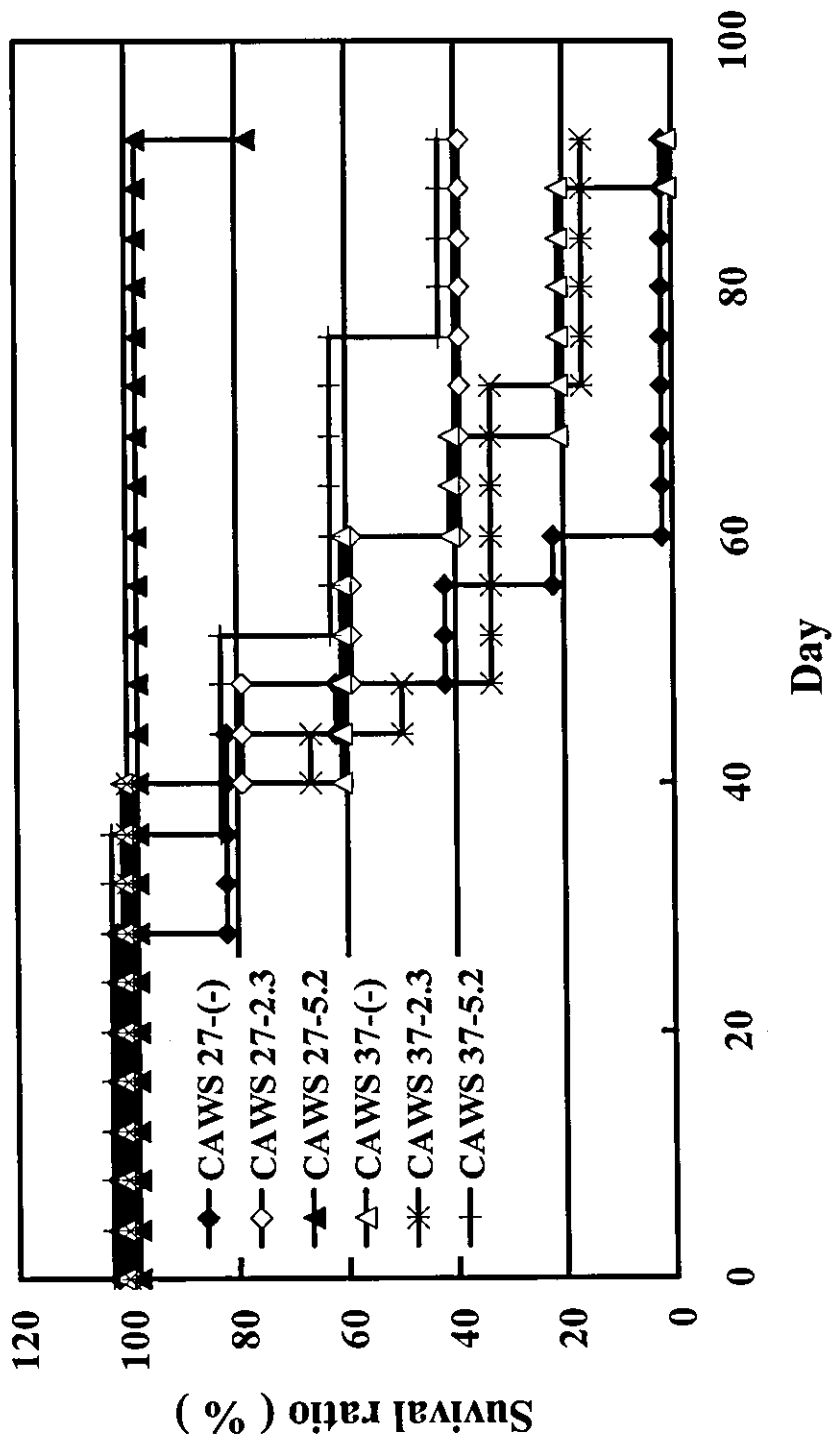


**CAWS27-(-)**



**CAWS27-5.2**

**Fig. 3 Histological observations of aorta and coronary arteritis on CAWS administered DBA/2 mice**



**Fig. 4 Survival ratio of CAWS-administered mice**

## MPO-ANCA 自己免疫疾患治療に有効な抗体作製に関する研究

分担研究者 新井孝夫 東京理科大学理工学部 教授  
研究協力者 黒岩憲二 東京理科大学理工学部 助手

### 研究要旨

MPO-ANCA 血管炎のリスクエピトープは、MPO 中のそれぞれ 63、69、82 アミノ酸残基からなる Ha、Hb、Hg の 3 つの領域に存在すると考えられている。この考えを検証するために、これらの領域のペプチドを化学合成し、これらを免疫原として血管炎の発症を引き起こすモノクローナル抗体の作製を試みた。本年度は、Ha 領域と Hb 領域のペプチドに対するモノクローナル抗体の MPO 結合活性を調べた。その結果、Ha 領域ペプチドに対する抗体は MPO 結合活性を示さないのに対し、Hb 領域に対するペプチドは高い反応性を示すものが多かった。Ha 領域に対する抗体の反応性に対するひとつの解釈として、この領域の SS 結合が関連している可能性も考えられる。

### A. 研究目的

本プロジェクトは、「MPO-ANCA 血管炎のリスクエピトープが MPO 中のそれぞれ 63、69、82 アミノ酸残基からなる Ha、Hb、Hg の 3 つの領域に存在する」という仮説をそのひとつの柱としている。これらの領域に相当するペプチドを化学合成し、これらを免疫原として血管炎の発症を引き起こすモノクローナル抗体を作製することは、この仮説を検証する上で重要な研究である。

本年度は、Ha 領域と Hb 領域のペプチドに対するモノクローナル抗体の MPO 結合活性を調べた。

本年度の目標は、Ha 領域と Hb 領域のペプチドに対するモノクローナル抗体の MPO 結合活性を調べることである。

### B. 研究方法

ペプチド合成は、エピトープ領域の限定ができること、化学合成が容易となるという 2 つの理由から、以下のようにした。Ha

領域については、3 つのシステイン残基を除外し、それぞれ、8、24、25 残基からなるペプチド A (4-11)、ペプチド A (14-37)、ペプチド A (39-63) を化学合成した。また、Hb 領域については 47 と 22 残基からなるペプチド B (1-47) とペプチド B (48-69) を、Hg 領域については 39 と 43 残基のペプチド G (1-39) とペプチド G (40-82) を、それぞれ合成した (図 1)。さらに、これら 7 ペプチドは KLH と結合した。

Ha 領域ペプチドのうち 2 つと Hb 領域の 2 つのペプチドをマウスに免疫し、作製されたハイブリドーマの作製培養上清のペプチド結合能を、KLH-ペプチドを固定したプレートを持ちいた ELISA により測定した。また、MPO-ANCA 活性は、リコンビナントマウス MPO を固定したプレートを持ちいた ELISA 法により測定した。

(倫理面への配慮)

実験動物の動物愛護上の配慮は、本大学実験施設の指針に基づいて行った。

### C. 研究結果

各ペプチドを免疫したマウスの中からそれぞれ1匹を選び、ハイブリドーマを作製した。表1は、KLH-ペプチドをもちいたELISAでスクリーニングした結果、陽性と判断されたハイブリドーマを示したものである。ペプチドA(4-11)、ペプチドA(14-37)、ペプチドB(1-47)、ペプチドB(48-69)に対して、それぞれ反応性の高い3、5、3、4種のハイブリドーマクローンを選択した。次に、これらのMPO-ANCAを測定した結果が表2である。Ha領域に対する8種のクローンのうち高い値を示すものはなかった。それに対し、Hb領域に対する7つのクローンのうち1つが極めて高い値を、2つが中程度の値を、2つが低い値を示した。

### D. 考察

Ha領域にはSS結合が複数存在し、これがMPOの立体構造に重要な寄与をしていると考えられている。Hb領域ペプチドに対する抗体がMPOを認識したのに対し、Ha領域ペプチドに対する抗体がMPO結合性を示さなかったことに対するひとつの解釈として、この領域のSS結合が関係していると思われる。

### E. 結論

MPO-ANCA自己免疫疾患の治療に有効なポリクローナル製剤の作製にとって、MPO-ANCA血管炎のリスクエピトープは大きな鍵をにぎっている。Hb領域に対する抗体が実際に血管炎を引き起こすか否かを調べることは、本プロジェクト遂行の上で極めて重要である。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Maruyama, K., Ohuchi, T., Yoshida, K., Shibata, Y., Sugawara F. and Arai, T. (2004) Protective properties of neoechinulin A against SIN-1-induced neuronal cell death. *J. Biochem. (Tokyo)* 136: 81-87.

2) 新井孝夫 (2004) モノクローナル抗体をもちいたポリグルタミン酸化チューブリンの神経細胞内局在、*実験医学*、22: 1876-1877.

3) Okada, Y., Suzuki, A., Takagi, S., Hirai, H., Saitoh, R., Adachi, A., Yanagisawa, T., Ueki, M., Fujii, T. and Arai, T. Polyglutamylation of tubulin during differentiation of neural precursor cells. *Bioimages* (in press)

#### 2. 学会発表

1) 小久保潤、吉田健二、新井孝夫: 脂質過酸化反応産物 4-hydroxynonenal の微小管重合に対する影響、第57回日本細胞生物学会大会、大阪、2004年5月

2) 村山研、長尾朋和、鞍馬秀輝、長谷川明洋、船津高志、南谷晴之、新井孝夫、中山俊憲、鈴木和男: 血管炎における活性化好中球のCD69分子、15回日本生体防御学会、長崎、2004年7月

3) 木本匡昭、青木俊明、倉持浩司、柴田康史、丸山清稔、大内敬、黒岩憲二、小林進: neoechinulin A 及び構造類縁体の、分化

PC12 細胞に対する保護作用と細胞毒性、  
第 77 回

日本生化学会大会、横浜、2004 年 10 月

4) 小久保潤、岡田陽介、黒岩憲二、新井孝夫：脂質過酸化反応産物 4-hydroxynonenal の微小管に対する影響、第 13 回日本バイオイメージング学会学術集会、京都、2004 年 11 月

5) 山岸舞、村山研、坂本明彦、新井孝夫、鈴木和男、船津高志：好中球の活性化に伴う CD69 分子の細胞膜表面移行のイメージング、第 13 回日本バイオイメージング学会学術集会、京都、2004 年 11 月

6) 塚田充泰、小久保潤、黒岩憲二、新井孝夫：アストログリア細胞の分子マーカーとなるモノクローナル抗体の作製、第 13 回日本バイオイメージング学会学術集会、京都、2004 年 11 月

7) 新井孝夫：ペルオキシナイトライトにより誘導される神経細胞死に対するネオエキヌリン A の防御作用、ナノメディシン公開シンポジウム「ナノバイオイメージングで切り開く先端的生体機能解析—血管炎と微小循環血流障害における分子生理機能を解き明かす—」、東京、2004 年 12 月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Ha (63 aa) : 3 本 (8 aa, 24 aa, 25 aa)

LNCETSCLQQPPCFPLKIPPNDPRIKNQKDCIPFFRSCPACTRNNITIRN  
QINALTSFVDASG

Hb (69 aa) : 2 本 (47 aa, 22 aa)

VYGSEDPLARKLRNLTNQLGLLAVNTRFQDNGRALMPFDSLHDDPCL  
LTNRSARIPCFLAGDMRSSEMP

Hg (82 aa) : 2 本 (39 aa, 43 aa)

PGYNAWRRFCGLPQPSTVGELGTVLKNLELARKLMAQYGTENNIDIW  
MGGVSEPLEPNRVRGQLLACLIGTQFRKLRDGRF

図1 マウス MPO リスクエпитープペプチドの合成

表1 リスクエイトープに対するモノクローナル抗体

免疫原	クローン
Peptide A (4-11)	4E11, 5A8, 5G4
Peptide A (14-37)	3A6, 4H12, 7F7, 9G2, 12H10
Peptide A (39-63)	作製中
Peptide B (1-47)	D1, G4, G5
Peptide B (47-68)	1E4, 2B6, 8H8, 9D12
Peptide G (1-39)	作製中
Peptide G (40-82)	

表2 抗ペプチドモノクローナル抗体の MPO-ANCA

クロー ン	MPO-ANCA ( $\mu$ g/ml)		免疫原	クロー ン	MPO-ANCA ( $\mu$ g/ml)		免疫原
	( $\times 50$ )	( $\times 1$ )			( $\times 50$ )	( $\times 1$ )	
4E11	0.55	0.02	Peptide A (4-11)	D1	1177	24.22	Peptide B (1-47)
5A8	0.43	0.01		G4	1.05	0.30	
5G4	0.21	0.01		G5	0.66	0.02	
3A6	0.55	0.04	Peptide A (14-37)	1E4	4.76	4.62	Peptide B (47-68)
4H12	0.74	0.03		2B6	2.03	2.33	
7F7	0.21	0.02		8H8	1.33	0.48	
9G2	1.58	0.07		9D12	0.17	0.00	
12H10	0.53	0.01					

## マウス血管炎誘発モデルを用いたヒト免疫グロブリン血管炎抑制効果の検討

分担研究者 高橋 啓 東邦大学医学部附属大橋病院病理学講座 助教授

共同研究者 大原関利章、山田仁美 東邦大学医学部

三浦典子、大野尚仁 東京薬科大学薬学部

村山 研、大川原明子、鈴木和男 国立感染症研究所

### 研究要旨

*Candida albicans* Water Soluble fractions (CAWS)によるマウス血管炎誘発モデルに対して、ヒト免疫グロブリン(*h-IG*)を投与した際の血管炎抑制効果を検討した。*h-IG* 投与により本実験系の汎血管炎発生頻度は有意に抑制された。汎血管炎が抑制された群においては、内膜あるいは外膜に炎症が限局する個体が増加していたが、全ての個体で血管壁に何らかの炎症性変化がみられた。本実験系に *h-IG* を投与した場合、血管炎の発生を抑制することは困難であるが、汎血管炎への進展が抑制されると推測された。

#### A. 研究目的

病理組織学的に川崎病との類似点が多い *Candida albicans* 由来の菌体成分(CAWS)によるマウス系統的血管炎誘発モデルについて、ヒト免疫グロブリン(*h-IG*)を投与した際の血管炎誘発抑制効果を検討した。

#### B. 研究方法

C57BL/6N マウス(4 週齢、雄)に対し、PBS に懸濁した CAWS 4mg を連続 5 日間腹腔内接種した。次いで、*h-IG* を CAWS 接種 15 分後にシリンジポンプを用いて尾静脈から点滴した。*h-IG* は、通常の *h-IG* (*h-IG*)、健常供給者の中で MPO-ANCA の含有量が高い *h-IG* (high MPO-ANCA)、MPO-ANCA 含有量が低

い *h-IG* (low MPO-ANCA)の三種類を用意した。*h-IG* 投与量は川崎病治療に準じ、400mg/Kg x 5 日間連続投与と 2000mg/Kg x 1 回投与を設定した(図 1)。実験 28 日目に炭酸ガス下に安楽死させ、直ちに剖検。冠状動脈分岐部を含む心基部大動脈水平断のステップ標本作製し、血管炎の詳細について観察した。

#### C. 研究結果

##### 1. 汎血管炎発生頻度の比較

未治療群における汎血管炎の発生頻度は 86%であった。これに対し、*h-IG* の 400mg x 5 日間連続投与では *h-IG* 群、high MPO-ANCA 群、low MPO-ANCA 群すべて、順に 40%、40%、50%に減少した。一方、*h-IG*

2000mg/Kg x 単回投与では、実験初日、3 日目いずれに投与しても汎血管炎を抑制することは出来なかった(図 2)。

## 2. 汎血管炎の組織像

大動脈起始部および冠状動脈に汎血管炎が生じた場合、いずれの群でも増殖性肉芽腫性炎症が観察され、光顕的観察において明らかな組織学的差異は見出せなかった(図 3)。

## 3. 血管炎の進展程度による比較

これまでの検討で本動脈炎は内膜炎として始まり、外膜に炎症が加わった後、全層性炎に進展することが明らかとなっている。そこで、血管壁に全く炎症が認められないものを Stage 0、炎症細胞浸潤が内膜に限局するものを Stage 1、内膜と外膜に限局するものを Stage 2、動脈壁全層に波及したものを、すなわち汎血管炎を Stage 3 とし、各マウスごとに Stage 分けを行い、詳細を検討した。その結果、Stage 3 (汎血管炎)の頻度が低下した群では、Stage 1 あるいは Stage 2 の所見を示す個体が増していた。しかしながら、Stage 0 すなわち血管壁に炎症性変化をみないマウスはいずれの群でも存在せず、*h-IG* 投与で血管炎を完全に抑制することは困難であった(図 4)。

## D. 考察

我々は、川崎病剖検例の病理組織学的検索を続ける一方で、*Candida albicans* 由来の菌体成分を用いたマウス系統的血管炎誘発モデルの検討を続けている。このモデルは冠状動脈、大動脈起始部や腎動脈などが高頻度に侵襲され、増殖性肉芽腫性炎症を特徴とするなど、川崎病と病理組織学的類似点が多い。

これまでの検討で、本実験系にヒトあるいはマウス免疫グロブリンを腹腔内投与すると血管炎発生に抑制傾向がみられること、本実験系の血管炎発生と血清 MPO-ANCA 値とは密接に関連することなどが判明している。そこで、改良を加えた CAWS によるマウス血管炎誘発モデルに対し、ヒト免疫グロブリン (*h-IG*) を投与した際の血管炎抑制効果を検討した。その結果、本実験系における汎血管炎は *h-IG* を投与することで有意に抑制されたが、その詳細を検討してみたところ、汎血管炎が抑制された群においても血管に炎症が全く存在しなかった個体はなく、内膜あるいは内膜と外膜に炎症が限局する個体が増加していることが判った。このように本血管炎モデルにおいて、*h-IG* は炎症の発生を制御するのではなく、血管炎の進展を抑制している可能性がある。

## E. 結論

川崎病のみならず血管炎症候群の治療として用いられつつある免疫グロブリン製剤は、本血管炎誘発モデルにおいても血管炎抑制効果を示した。現在、人工グロブリン製剤による治療効果を検討中である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

K.Takahashi, T. Oharaseki,  
M.Wakayama, Y.Yokouchi, S. Naoe and H.



Murata: Histopathological features of murine systemic vasculitis caused by *Candida albicans* extract – an animal model of Kawasaki Disease. *Inflamm. res.* 53: 72–77, 2004

T. Oharaseki, Y. Kameoka, F. Kura, A. S. Persad, K. Suzuki, S. Naoe: Susceptibility loci to coronary arteritis in animal model of Kawasaki disease induced with *Candida albicans*-derived substances. *Microbiol. Immunol* 49: 181-189, 2005

## 2. 学会発表

高橋 啓、大原関 利章、山田仁美、三浦典子、大野尚仁、土田和徳、金城義明、村山研、大川原明子、鈴木和男：ヒト免疫グロブリン静脈内投与による血管炎抑制効果の病理組織学的検討。生体防御機能異常ワークショップ 2004 第 7 回肝臓生物学研究会合同年会、沖縄、2004.06

大原関利章、横内 幸、若山 恵、三浦典子、鈴木和男、大野尚仁、村田久雄、直江史郎、高橋 啓：カンジダ誘導マウス動脈炎モデルにおける動脈炎成立過程の組織学的検討。第 93 回日本病理学会総会、札幌、2004.06.

大原関 利章、高橋 啓、三浦典子、大川原明子、山田仁美、村山 研、土田和徳、金城義明、金子健二、大野尚仁、直江史郎、鈴木和男：川崎病類似マウス系統動脈炎モデルにおけるヒト免疫グロブリンの治療効果の検討。第 40 回日本小児循環器学会総会、東京、2004.06

Oharaseki T, Yokouchi Y, Wakayama M, Yamada H, Miura N, Ohno N, Naoe S, Takahashi K: Time-course of changes in histopathology of

experimental vasculitis mimicking arteritis in Kawasaki disease. 8th International Kawasaki Disease Symposium. San Diego, U.S.A, 2005.02.

Oharaseki T, Kameoka Y, Kura F, Yokouchi Y, Yamada H, Suzuki K, Naoe S, Takahashi K: Chromosomal localization of coronary arteritis-susceptible genes in experimental model of Kawasaki disease. 8th International Kawasaki Disease Symposium. San Diego, U.S.A, 2005.02.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記事項なし

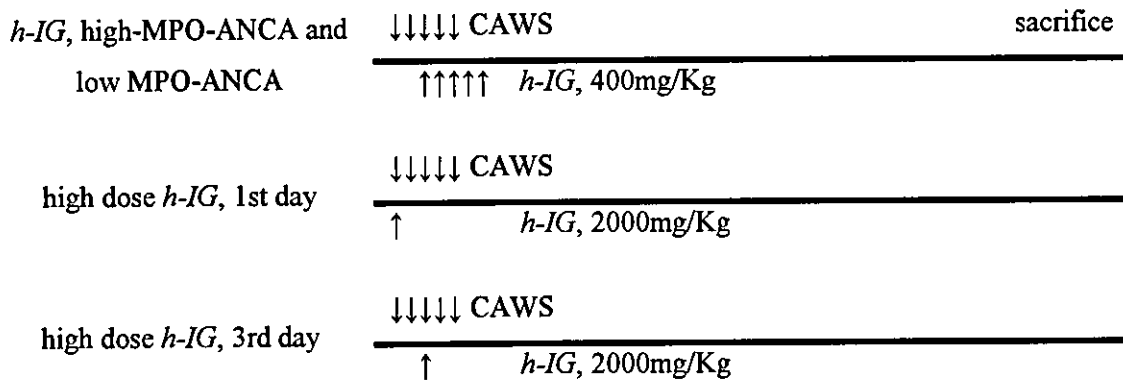


図 1 : 実験スケジュール

	Number of mice	
non-treatment (control)	32/37 (86%)	
<i>h-IG</i>	8/20 (40%)	*
high dose MPO-ANCA	4/10 (40%)	*
low dose MPO-ANCA	5/10 (50%)	**
single <i>h-IG</i> , 1st day	8/10 (80%)	
single <i>h-IG</i> , 3rd day	7/10 (70%)	

\*p<0.01, \*\*p<0.05

図 2 : 各群における汎血管炎発生頻度



図3 : *h-IG* 群で見られた大動脈起始部の肉芽腫性炎症

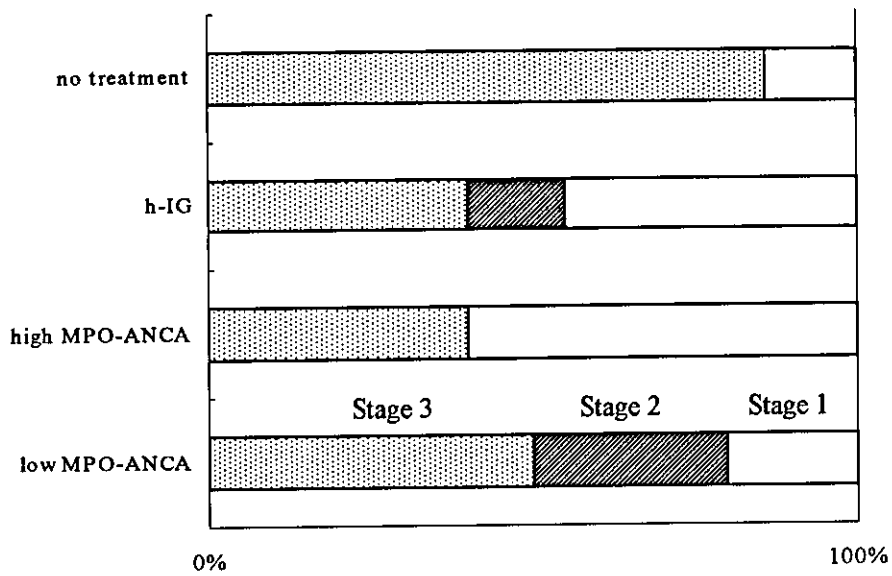


図4 : Stage 毎にみた動脈病変

炎症疾患治療評価を行うための諸条件の検討：  
好中球機能異常が関わる炎症性疾患の解析

分担研究者 荒谷康昭 横浜市立大学木原生物学研究所 助教授

研究要旨

紫外線（UVB）が皮膚に照射されると、皮膚組織への好中球の浸潤やミエロペルオキシダーゼ（MPO）活性の増加が報告されている。このことから、UVBにより誘発される皮膚炎において、浸潤してきた好中球により産生される過剰な活性酸素が皮膚組織に傷害を与えているものと考えられるがその詳細は明らかにされていない。活性化した好中球はNADPHオキシダーゼによって酸素からスーパーオキシドを、またミエロペルオキシダーゼ（MPO）によって過酸化水素から次亜塩素酸を活発に産生する。本研究では、我々が作製したMPO欠損（MPO-KO）マウスに加えて、NADPHオキシダーゼ欠損マウス（CGDマウス）、およびその両酵素の二重欠損マウス（MPO-KO/CGDマウス）も用いて、本炎症における好中球由来の活性酸素の関与を個体レベルで解析した。UVBをマウスの背部に照射し、実験的皮膚炎を誘発させ、皮膚の組織病理像を比較したところ、Wild-typeマウスと比較してMPO-KOマウスの方が早期に皮膚炎を進行させ、CGDマウスはより早期に、MPO-KO/CGDマウスが最も早期に皮膚炎を進行させることが明らかになった。また、皮膚に浸潤してきた炎症細胞の大半が好中球およびマクロファージであること、さらに好中球およびマクロファージの浸潤量は炎症の進行に伴い増加することを免疫組織化学染色により明らかにした。すなわち、好中球に存在する活性酸素の代謝酵素を欠損することによって紫外線誘発皮膚炎の発症が促進することが明らかとなった。

A. 研究背景・目的

オゾン層の破壊によりUVBの地表到達量が増加しており、その生物学的作用から深刻化している。UVBは紅斑や水腫などの急性炎症を引き起こすだけでなく、光老化や皮膚癌に至る。ヒトではUVBが皮膚に照射されると、好中球が皮膚組織へ浸潤してくることが知られている。

好中球は病原微生物の感染等によって活性化されることで様々な活性酸素やプロテアーゼを産生してその病原微生物を殺菌し、感染初期の生体防御に重要な役割を担っている。ところが、好中球からの活性酸素の産生が長時間持続すると正常組織にも傷害を与えて炎症を助長するという生体にとっての悪影響が懸念される。