

平成 30 年度 厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

研究課題名：ナノマテリアル曝露による慢性影響の効率的評価手法開発に関する研究

分担研究課題名：ナノマテリアルの免疫系への慢性影響に関する研究

研究分担者：石丸 直澄 徳島大学大学院医歯薬学研究部 教授

研究協力者：新垣理恵子 徳島大学大学院医歯薬学研究部 准教授

研究協力者：牛尾 綾 徳島大学大学院医歯薬学研究部 助教

研究協力者：大塚 邦紘 徳島大学大学院医歯薬学研究部 大学院生

研究要旨

ナノマテリアルの免疫システムへの慢性的な影響に関しては詳しく知られていない。本研究では、Taquan 処理された形状や性状の異なるナノマテリアルの曝露における免疫制御システムへの影響評価について、*in vivo* での解析を中心に実施した。Taquan 処理された長さの異なる二層化カーボンナノチューブ（T-DWCNT）の腹腔投与による各免疫担当細胞分画の変化を観察するとともに Taquan 処理されたカーボンナノチューブ（T-CNT）およびチタン酸カリウム（Ti）の腹腔内投与によって腹腔滲出細胞における Reactive oxygen species (ROS) 関連遺伝子に関して網羅的に解析した。T-DWCNT の長さによって腹腔内のマクロファージの活性化や機能に違いがある可能性が示された。T-CNT 投与では、Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (Ptgs2)、Myeloperoxidase (Mpo)、IL-19 遺伝子などの発現が上昇していた。また、Ti 投与では Mpo、Albumin、Recombination activating gene 2、Ptgs2 遺伝子などの発現が上昇していた。T-CNT と Ti 投与の比較では Ti 投与によって Flavin containing monooxygenase 2 遺伝子の発現が優位に上昇していた。以上のことから、ナノマテリアルの形状や種類によって腹腔マクロファージの ROS を介した活性化機構が異なっていることが判明した。

A. 研究目的

ナノマテリアルの曝露による免疫系への影響に関しては、カーボンナノチュ

ーブの吸引による肺胞マクロファージの活性化を検討した研究がよく知られている。さらに、カーボンナノチューブ

の吸入暴露により、T細胞のマイトージェンに対する反応性が低下し、NK活性に関してもカーボンナノチューブ暴露により抑制されることが報告されている。ナノマテリアルの暴露による慢性的な免疫システムへの詳細な影響に関しては不明のままである。本研究では、ナノマテリアルの暴露による免疫システムへの影響の評価系を確立することならびにナノマテリアル暴露による詳細な免疫反応に関して、マクロファージに焦点を当てて検討を進めた。

今年度は長さの異なるT-DWCNTの腹腔投与による各免疫担当細胞分画の変化を観察するとともに、T-CNTとTiの腹腔内曝露によるPECのROS関連遺伝子の発現に関して検討を加えた。

B. 方法

マウス

9週齢の雌 C57BL/6 (B6)マウス（を用い、DWCNT (78本) の1 μm 投与群 (6匹)、7 μm 投与群 (5匹)、15 μm 投与群 (5匹) 及び対照群 (5匹) を準備した。腹腔投与から5週後に屠殺、解析を実施した。また、8週齢の雌 B6 マウス (各群3匹) を用い、T-CNT、Tiをそれぞれ10 μg /マウスで腹腔内投与後、6時間にて解析を実施した。

マウスを用いた動物実験に関しては、実験動物に関する取り扱いについて使用する動物の苦痛の軽減や安楽死の方法などを中心として徳島大学実験動物

委員会において定められている倫理面に配慮した実験動物運営規定に基づき、厳格な審査を経た上で実施されている。また、ナノマテリアルの暴露・漏洩を防止する対策については万全を期して実施している。

MWCNT、DWCNT、チタン酸カリウム多層化カーボンナノチューブはMWCNT-7 (保土ヶ谷化学) を用い、国立食品衛生研究所・高橋主任研究官によりDWCNT (1 μm 、7 μm 、15 μm)、Taquann 処理された MWCNT (T-CNT) を供与された。Taquann 処理されたチタン酸カリウム (Ti) についても国立食品衛生研究所・高橋主任研究官より供与された。溶媒として0.1% Tween80/生理食塩水が用いられ、いずれも腹腔内に注射された。

免疫細胞の採取

腹腔滲出細胞の解析マウスの腹腔内を5mlのPBSで洗浄し、採取した滲出細胞を用いて、フローサイトメトリー解析を行った。腸間膜リンパ節は、ホモジナイズ後、洗浄、ろ過によってリンパ節細胞を採取した。脾臓に関しては、ホモジナイズ、ろ過、洗浄後、塩化アンモニウム水溶液 (0.83%) にて溶血、洗浄、ろ過によって脾細胞を採取した。

また、PECの遺伝子発現に関して、マウスの腹腔内を5mlのPBSで洗浄し、採取した滲出細胞からRNA抽出キット

を用いて Total RNA を抽出した。

フローサイトメトリー解析

ナノマテリアル投与マウスの脾臓、腸間膜リンパ節、腹腔内滲出細胞から単核球を採取し、蛍光色素標識された各種リンパ球表面マーカー (Ly5.2、CD19、CD11b、F4/80、CD206、CD192、CD36、CD204、CD4、CD8、CD44、CD25) に対する抗体にて染色後、解析装置 (FACSCant BD Biosciences) にてそれらの発現を経時的に検討した。

PCR アレイ

Oxidative Stress RT2 Profiler PCR Array (QIAGEN)を用いて下記の遺伝子発現について解析した。

(1)Antioxidants

a. Glutathione Peroxidases

(GPx): Gpx1, Gpx2, Gpx3, Gpx4, Gpx5, Gpx6, Gpx7, Gstk1, Gstp1.

b. Peroxiredoxins

(TPx): Ehd2, Prdx1, Prdx2, Prdx3, Prdx4, Prdx5, Prdx6 (Aop2)

c. Other Antioxidants

Alb, Gsr, Sod1, Sod3, Srxn1, Txnrd1, Txnd2, Txnrd3

(2) Reactive Oxygen Species (ROS)

Metabolism

a. Superoxide Dismutases (SOD): Sod1, Sod2, Sod3

b. Other Superoxide Metabolism

Genes: Ccs, Cyba, Ncf1, Ncf2, Nos2 (iNOS

), Nox1, Nox4, Noxa1, Noxo1, Recql4, Scd1, Ucp2

c. Other Reactive Oxygen Species (ROS)

Metabolism Genes: Aox1, Fmo2, Il19, Il22

d. Oxidative Stress Responsive

Genes: Als2, Apoe, Cat, Ccl5 (RANTES), Ctsb, Duox1, Epx, Ercc2 (XPD), Ercc6, Fth1, Gclc, Gclm, Gpx1, Gpx2, Gpx3, Gpx4, Gpx5, Gpx6, Gpx7, Gsr, Gss, Hmox1, Hspa1a(hsp70A1), Idh1, Krt1, Mpo, Nqo1, Park7, Prdx1, Prdx2, Prdx6 (Aop2), Prnp, Psmb5, Sod1, Sqstm1, Tpo, Txn1, Txnip, Txnrd1, Txnrd2, Ucp3, Xpa.

(3) Oxygen Transporters

Atr, Cygb, Dnm2, Fance, Ift172, Mb, Ngb, Slc38a1, Vim.

各群 3 匹の平均値を用いて遺伝子発現の比較を行った。

C. 研究結果

長さの異なる2層化カーボンナノチューブ (1、7、15 μ m : 本数 : 78本) を正常雌B6マウス (9週齢) に腹腔内投与し、5週後に解析した (図1A)。腹腔内の肉眼的所見として、15 μ m投与群の中に肝臓の表面あるいは腹膜表層に黒色の集積物が観察された (図1B)。腹腔内の洗浄液を遠心後、15 μ m投与群では黒色の沈殿物が肉眼的に観察された (図1C)。さらに、組織学的に検討したところ、腹膜表層部に黒色線維の集積物周囲に多核異物巨細胞の出現を伴う肉芽が確認された (図

1D)。PEC中のF4/80⁺CD11b⁺マクロファージは割合、細胞数共に対照群に比較して大きな変化は認められなかった(図2)。また、腹腔内マクロファージのM1(CD192)あるいはM2(CD206)マーカーを検討すると、DWCNT投与群と対照群で有意な変化は見られなかったが、1 μ m投与群でCD206の発現が高い傾向にあった(図2)。加えて、スカベンジャー受容体に関して検討したところ、7 μ m投与群でCD36の発現が有意に上昇していた(図2)。

正常B6雌マウス(8週齢)に、T-CNT、Tiおよび生理食塩水(対照群)を腹腔内投与6時間後、屠殺、解析を実施した(図3)。

T-CNT投与群と対照群との比較では、Ptgs2, Mpo, Il19, Ngb, Nqo1, Cygbの遺伝子発現が有意に上昇していた(図3)。また、Ti投与群と対照群との比較では、Mpo, Alb, Rag2, Ptgs2, Ngb, Il22, Cygb, Noxa1, Nqo1の遺伝子発現が有意に上昇していた(図4)。さらに、T-CNT投与群とTi投与群の遺伝子発現を比較すると、Ti投与群で遺伝子発現が強くなっているものが多く、Fmo2, Alb, Rag2, Duox1, Ucp3, Nox1, Recql4, Mpoなどの遺伝子があげられる(図5)。T-CNT投与群で発現上昇していた遺伝子はPtgs2, Il19であった(図5)。

D. 考察

本研究では、ナノマテリアルの曝露に

よる免疫担当細胞への影響を検討する上で、腹腔への投与によって、体内の限られた曝露空間のモデルが用いられた。腹腔内滲出細胞としてマクロファージをはじめ好中球やリンパ球なども含まれている。本研究で実施された長さの異なるDWCNTの腹腔内投与では、スカベンジャー受容体のひとつであるCD36の発現が7 μ mの長径のT-DWCNT投与で上昇していたことから、ナノマテリアルの大きさ、形状によってマクロファージの活性化に大きな違いが生じることが示された。

また、本研究で検討を行ったサンプルは様々な細胞分画を含んでおり、遺伝子の変化がどの細胞分画を反映しているのかは不明であるが、ROS関連遺伝子に関してはマクロファージや好中球などの自然免疫に関与する免疫担当細胞で変動が大きいことがすでに知られているとともに、ナノマテリアルの暴露ではマクロファージや好中球が多く腹腔内に遊走されることが知られているので、今回の実験でも主に腹腔内のマクロファージや好中球における遺伝子変化が反映されているものと推測される。

T-CNT投与群と対照群との比較では、Ptgs2, Mpo, Il19, Ngb, Nqo1, Cygbの遺伝子発現が有意に上昇していたが、Ptgs2はCox2シクロオキシナーゼとして知られており、プロスタグランジンE2の誘導を介して免疫細胞の活性化に作用している。Mpoは主に好中球から分泌され

る酵素で、過酸化水素と塩素イオンから次亜塩素酸を産生することによって異物処理に働くことが知られている。また、IL-19 に関しては、IL-20 受容体と結合することによって、STAT3 のリン酸化を介した転写制御の亢進が報告されている。Ngb は細胞活性化でのシグナル伝達に重要である。Nqo1 は NADPH キノン還元酵素で異物の代謝酵素群の一つである。Cygb は酸素や一酸化窒素などと結合し、カルシウム依存性 NADPH オキシダーゼとして働く。T-CNT の曝露によってマクロファージあるいは好中球のこれらの遺伝子群の発現が上昇することで、生体内での免疫反応のきっかけになる可能性を有している。

Ti 投与では Mpo, Alb, Rag2, Ptgs2, Ngb, Il22, Cygb, Noxa1, Nqo1 などの遺伝子群の発現上昇が確認されたが、T-CNT で共通の遺伝子として、Mpo, Ptgs2, Ngb, Cygb, Nqo1 があげられる。Alb が上昇していることがマクロファージや好中球のエネルギー代謝に影響している可能性が考えられた。Rag2, IL-22, Noxa1 の発現上昇も Ti 曝露による ROS 経路の活性化に重要であると考えられる。

T-CNT と Ti 投与群の比較では Ti 投与群で大幅に遺伝子発現が偏っていたのは Fmo2 と Alb 遺伝子であった。Alb 遺伝子の上昇は T-CNT 曝露よりも Ti 曝露の方がエネルギー代謝に影響を与えている可能性が考えられた。また、Fmo2 はフラビン含有モノオキシゲナーゼで

NADPH 依存的に含窒素、硫黄、リン酸化合物の酸化を触媒することが知られており、細胞のエネルギー代謝に関与している。

今回の実験では腹腔内に限定されたナノマテリアルに対する免疫反応を観察したが、今後は呼吸器でのナノマテリアルの曝露による免疫担当細胞のスカベンジャー受容体あるいは ROS を介した反応を検討する予定である。

E. 結論

- 1 長さの異なるDWCNTの腹腔内投与によって、長さの違いによってマクロファージにおけるスカベンジャー受容体の発現が異なっていた。
- 2 C-CNTあるいはTiの腹腔内曝露によって免疫担当細胞のROS関連遺伝子の中で共通の遺伝子の変化とともに異なった遺伝子変化が認められた。
- 3 異なったナノマテリアルの曝露によって好中球やマクロファージのROSを介した多様な免疫反応が生じる可能性が示された。
- 4 ナノマテリアルの生体内での曝露はその性状および形状によってマクロファージを主体とした自然免疫反応が大きく影響を受けることが示された。

F.健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Nakatomi C, Nakatomi M, Matsubara T, Komori T, Doi-Inoue T, Ishimaru N, Weih F, Iwamoto T, Matsuda M, Kokabu S, Jimi E. Constitutive activation of the alternative NF- κ B pathway disturbs endochondral ossification. *Bone*. 2019 Apr;121:29-41 doi: 10.5152/eurjrh.2019.18137.

(2) Ushio A, Arakaki R, Otsuka K, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Aota K, Azuma M, Ishimaru N. CCL22-Producing Resident Macrophages Enhance T Cell response in Sjögren's syndrome. *Front Immunol* 9:2594, 2018 doi: 10.3389/fimmu.2018.02594.

(3) Otsuka K, Yamada K, Taquahashi Y, Arakaki R, Ushio A, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Ishimaru N. Long-term polarization of alveolar macrophages to a profibrotic phenotype after inhalation exposure to multi-wall carbon nanotubes. *PLoS One* 13(10):e0205702, 2018 doi: 10.1371/journal.pone.0205702

(4) Aota K, Yamanoi T, Kani K, Nakashiro KI, Ishimaru N, Azuma M. Inverse correlation between the number of CXCR3+ macrophages and the severity of inflammatory lesion in Sjögren's syndrome salivary glands: A pilot study. *J Oral Pathol Med* 47(7):710-718, 2018 doi: 10.1111/jop.12756

(5) Siriwardena SBSM, Tsunematsu T, Qi G, Ishimaru N, Kudo Y. Invasion-related

factors as potential diagnostic and therapeutic targets in oral squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci* 19(5):E1462, 2018 doi: 10.3390/ijms19051462

(6) Aota K, Kani K, Yamanoi T, Nakashiro KI, Ishimaru N, Azuma M. Distinct Regulation of CXCL10 Production by Cytokines in Human Salivary Gland Ductal and Acinar Cells. *Inflammation*. 2018 Aug;41(4):1172-1181. doi:10.1007/s10753-018-0764-0.

(7) 石丸直澄、林良夫：口唇腺生検病理診断 シェーグレン症候群の診断と治療マニュアル 改訂第3版(2018年) 70-75 ISBN978-4-7878-2369-4

(8) 石丸直澄：膠原病の病理—今日的視点から—唾液腺病変 病理と臨床 36(6), 580-585, 2018

(9) 牛尾綾、大塚邦紘、新垣理恵子、工藤保誠、石丸直澄：シェーグレン症候群研究の最前線 細胞 50(10), 528-531, 2018

(10) 石丸直澄、山田安希子：シェーグレン症候群における制御性 T 細胞 医学のあゆみ Vol.268, No.13 1241-1245, 2019

2. 学会発表

(1) Naozumi Ishimaru, Mie Kurosawa, Rieko Arakaki, Aya Ushio, Kunihiro Otsuka, Yasusei Kudo: Contributions of CXCL12 and its receptor to the T cell autoimmune response in a Sjögren's syndrome murine model. 14th International

- Sjogren's Syndrome Symposium,
Washington DC, April 18-21, 2018
- (2) Aya Ushio, Rieko Arakaki,
Kunihiro Otsuka, Akiko Yamada,
Yasusei Kudo, and Naozumi
Ishimaru: CCL22-producing
resident macrophages enhance
autoimmune lesions in a mouse
model of Sjögren's syndrome. 11th
International Congress on
Autoimmunity, Lisbon, May 16-20,
2018
- (3) Kunihiro Otsuka, Akiko Yamada,
Masako Saito, Satoko Kujiraoka,
Aya Ushio, Takaaki Tsunematsu,
Rieko Arakaki, Yasusei Kudo,
Hidehiro Kishimoto, Naozumi
Ishimaru: Analysis of follicular
helper T cells in a mouse model for
Sjögren's syndrome. 11th
International Congress on
Autoimmunity, Lisbon, May 16-20,
2018
- (4) Rieko Arakaki, Mie
Kurosawa, Akiko Yamada, Aya
Ushio, Satoko Kujiraoka, Kunihiro
Otsuka, Takaaki Tsunematsu,
Yasusei Kudo, Jonathan Sprent,
and Naozumi Ishimaru. NF- κ B2
Controls the Migratory Activity of
Memory T Cells to the Target
Tissues in a Mouse Model of
Sjögren's Syndrome by Regulating
Expression of CXCR4. 11th
International Congress on
Autoimmunity, Lisbon, May 16-20,
2018
- (5) 石丸直澄: シェーグレン症候群
における自己反応性獲得機序の
解明 第107回日本病理学会総会
札幌 (ロイトン札幌) 2018.6.23
- (6) 新垣理恵子、牛尾綾、大塚邦紘、
工藤保誠、石丸直澄 全身吸入
曝露による多層化カーボンナノ
チューブの肺胞マクロファージ
への影響 第107回日本病理学
会総会 札幌 (ロイトン札幌)
2018.6.23
- (7) 中山慎一郎、新垣理恵子、牛尾
綾、大塚邦紘、常松貴明、工藤
保誠、石丸直澄 シェーグレン
症候群モデルマウス唾液腺にお
けるIL-33の発現とその役割 第
107回日本病理学会総会 札幌
(ロイトン札幌) 2018.6.23
- (8) 牛尾綾、新垣理恵子、大塚邦紘、
山田安希子、工藤保誠、石丸直
澄 CCL22産生唾液腺マクロフ
ァージはシェーグレン症候群の
病態形成に関与する 第107回
日本病理学会総会 札幌 (ロイ
トン札幌) 2018.6.21
- (9) 大塚邦紘、山田安希子、齋藤雅
子、牛尾綾、常松貴明、工藤保
誠、新垣理恵子、石丸直澄 シ
ェーグレン症候群疾患モデルの

- 自己免疫病変における濾胞ヘルパーT細胞の役割 第107回日本病理学会総会 札幌（ロイトン札幌）2018.6.21
- (10) 沼田雪乃、大塚邦紘、山田安希子、牛尾綾、常松貴明、工藤保誠、新垣理恵子、石丸直澄 シェーグレン症候群モデルにおけるNotchシグナルの役割 第107回日本病理学会総会 札幌（ロイトン札幌）2018.6.23
- (11) 常松貴明、工藤保誠、新垣理恵子、大塚邦紘、牛尾綾、山田安希子、小川博久、常山幸一、石丸直澄 DNAライセンス因子CDT1の新規ユビキチン分解制御機構とその意義の解明 第107回日本病理学会総会 札幌（ロイトン札幌）2018.6.23
- (12) 西條早紀、常松貴明、大塚邦紘、牛尾綾、山田安希子、新垣理恵子、工藤保誠、石丸直澄 Emilの過剰発現による人工口腔癌幹細胞の作成 第107回日本病理学会総会 札幌（ロイトン札幌）2018.6.23
- (13) 梅田将旭、常松貴明、大塚邦紘、牛尾綾、山田安希子、新垣理恵子、工藤保誠、石丸直澄 口腔癌におけるPeriostinスプライシングバリエントの同定とその役割 第107回日本病理学会総会 札幌（ロイトン札幌）2018.6.23
- (14) Tsunematsu T, Ishimaru N, Kudo Y: APC/C-Cdh1-mediated degradation of Borealin triggers differentiation of pluripotent stem cells. FASEB meeting "Ubiquitin and Cellular Regulation" Snowmass Village, CO, USA, June 22, 2018
- (15) 大塚邦紘、山田安希子、牛尾綾、木曾田暁、常松貴明、工藤保誠、新垣理恵子、石丸直澄 シェーグレン症候群疾患モデルの自己免疫病変における濾胞ヘルパーT細胞の役割 第17回四国免疫フォーラム 徳島 2018.6.30
- (16) 大塚邦紘、山田安希子、齋藤雅子、牛尾綾、木曾田暁、常松貴明、工藤保誠、新垣理恵子、石丸直澄 シェーグレン症候群疾患モデルの自己免疫病変における濾胞ヘルパーT細胞の役割 分子病理学研究会37はがくれシンポジウム 佐賀 2018.7.7
- (17) 大塚邦紘、山田安希子、牛尾綾、新垣理恵子、齋藤雅子、木曾田暁、常松貴明、工藤保誠、石丸直澄 Ascl2を介した濾胞ヘルパーT細胞分化異常が自己免疫疾患の病態形成に関与する 先端歯学スクール2018 東京 2018.8.23-24
- (18) 大塚邦紘、山田安希子、齋藤雅子、牛尾綾、木曾田暁、常松貴

- 明、工藤保誠、新垣理恵子、石丸直澄 Ascl2を介した濾胞ヘルパーT細胞分化異常が自己免疫疾患の病態形成に関与する 第29回日本臨床口腔病理学会総会 東京 2018.8.25-26
- (19) 大塚邦紘、山田安希子、齋藤雅子、牛尾綾、木曾田暁、常松貴明、工藤保誠、新垣理恵子、石丸直澄 第60回歯科基礎医学会学術大会 福岡 2018.9.5-7
- (20) 大塚邦紘、山田安希子、齋藤雅子、牛尾綾、木曾田暁、常松貴明、工藤保誠、新垣理恵子、石丸直澄 第27回日本シェーグレン症候群学会 小倉 2018.9.14-15
- (21) 牛尾綾、新垣理恵子、大塚邦紘、山田安希子、工藤保誠、石丸直澄 CCL22産生唾液腺マクロファージはシェーグレン症候群の病態形成に関与する 第27回日本シェーグレン症候群学会 小倉 2018.9.14-15
- (22) Kunihiro Otsuka, Akiko Yamada, Aya Ushio, Rieko Arakaki, Takaaki Tsunematsu, Masako Saito, Yasusei Kudo, Naozumi Ishimaru : Impairment of the differentiation into follicular helper T cell through Ascl2 enhances autoimmune lesions in a mouse model for Sjögren's syndrome. 2018 Tokushima Bioscience Retreat 香川 (リゾートホテルオリビアン小豆島) 2018.9.20-22
- (23) Kunihiro Kunihiro, Akiko Yamada, Masako Saito, Aya Ushio, Takaaki Tsunematsu, Rieko Arakaki, Yasusei Kudo, Naozumi Ishimaru: A crucial role of follicular helper T cells in autoimmunity of a mouse model for Sjögren's syndrome. 第47回日本免疫学会学術集会 福岡 2018.12.10-12
- (24) Aya Ushio, Rieko Arakaki, Kunihiro Otsuka, Akiko Yamada, Yasusei Kudo, and Naozumi Ishimaru: CCL22-producing macrophages promote T cell autoimmunity in the target organ of Sjögren's syndrome. 第47回日本免疫学会学術集会 福岡 2018.12.10-12
- (25) Rieko Arakaki, Shinichiro Nakayama, Aya Ushio, Kunihiro Otsuka, Satoshi Kisoda, Takaaki Tsunematsu, Akiko Yamada, Yasusei Kudo, Naozumi Ishimaru: The role of the cleaved form IL-33 in pathogenesis of Sjögren's syndrome (SS). 第47回日本免疫学会学術集会 福岡 2018.12.10-12
- (26) 新垣理恵子、山田耕一、齋藤雅子、大塚邦紘、山田安希子、常松貴明、

工藤保誠、菅野純、石丸直澄、多
層化カーボンナノチューブ長期暴
露による免疫システムへの慢性毒
性 第106回日本病理学会総会
2018年4月28日 東京

なし

(27) Ushio A, Arakaki R, Yamada A,
Otsuka K, Kujiraoka S,
Tsunematsu T, Kudo Y,
Ishimaru N: A unique
macrophage subset of the target
organ in a murine model of
Sjögren's syndrome 第106回日
本病理学会総会 2018年4月28日
東京

(28) Otsuka K, Yamada A, Saito M, Ushio
A, Kurosawa M, Kujiraoka S,
Tsunematsu T, Kudo Y, Arakaki R,
Ishimaru N: Analysis of follicular
helper T cells in a mouse model for
Sjögren's syndrome. 第106回日本
病理学会総会 2018年4月28日
東京

H. 知的財産所有権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

図1 長さの異なるDWCNTの腹腔内投与

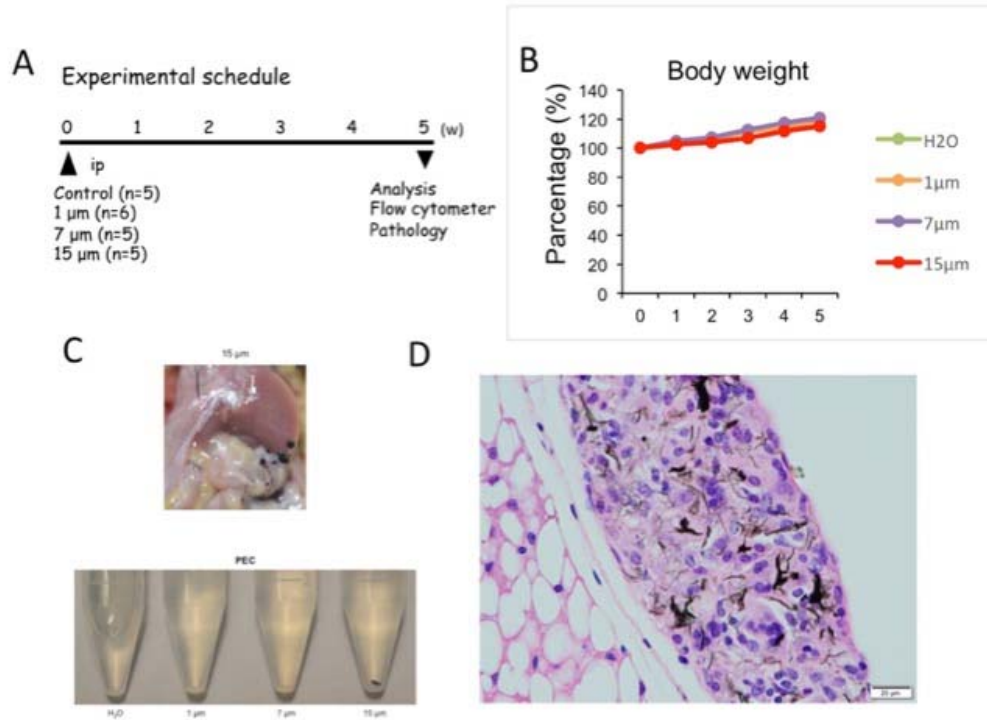


図2 長さの異なるDWCNTの腹腔内投与
 ～腹腔マクロファージにおけるスカベンジャー受容体の発現～

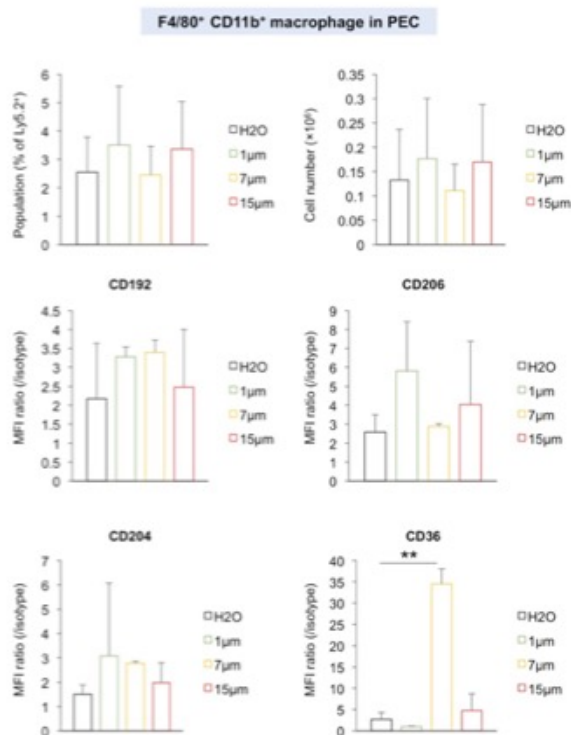


図3 チタン酸カリウム/CNT腹腔内暴露によるPECにおけるROS関連遺伝子の変化

Experimental protocol

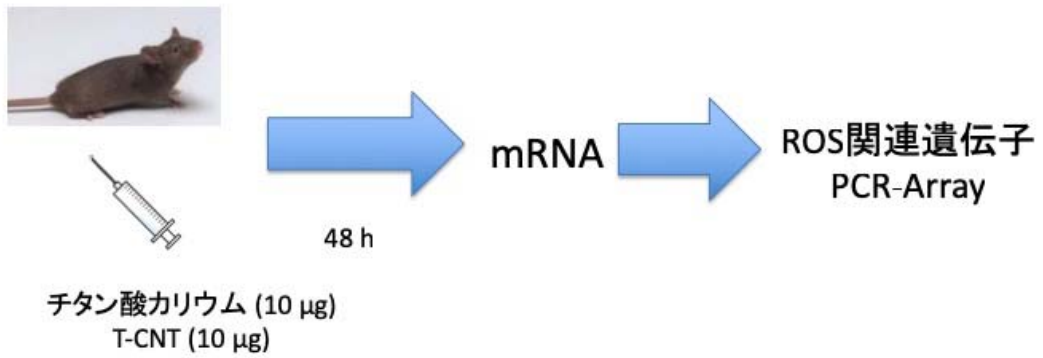
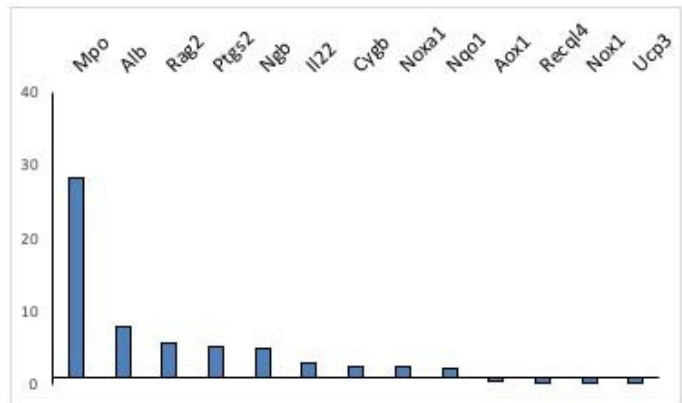
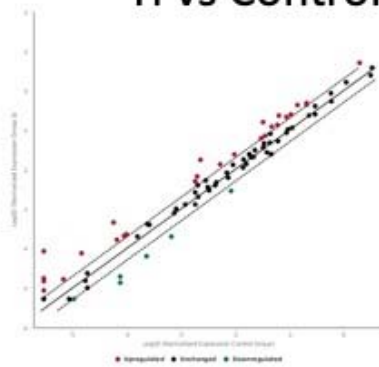


図4

Ti vs Control



- Alb** Albumin
- Aox1** Aldehyde oxidase 1
- Cygb** Cytoglobin
- Il22** Interleukin 22

- Mpo** Myeloperoxidase
- Ngb** Neuroglobin
- Nox1** NADPH oxidase 1
- Noxa1** NADPH oxidase activator 1
- Nqo1** NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1
- Ptgs2** synthase 2
- Rag2** Recombination activating gene 2
- Recq14** RecQ protein-like 4
- Ucp3** (mitochondrial, proton carrier)

- アルブミン**
アルデヒド酸化酵素
サイトグロビン 酸素(O₂)や一酸化窒素 (NO)などと結合

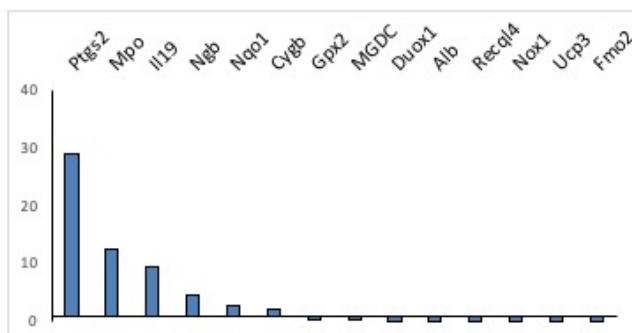
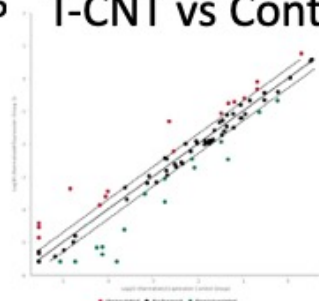
- ミエロペルオキシダーゼ**(好中球に存在する酵素で過酸化水素と塩素イオンから次亜塩素酸を産生する)
- ニューログロビン**(シグナル伝達に関与)
- NADPHオキシダーゼ**(活性酸素の生成源)

- NAD (P) H キノン還元酵素(NQO1)** . 異物代謝酵素群

- COX2 シクロオキシゲナーゼ**
- Rag-2**
DNAの複製・修復に関与するヘリカーゼタンパク

- ミトコンドリア脱共役蛋白質**

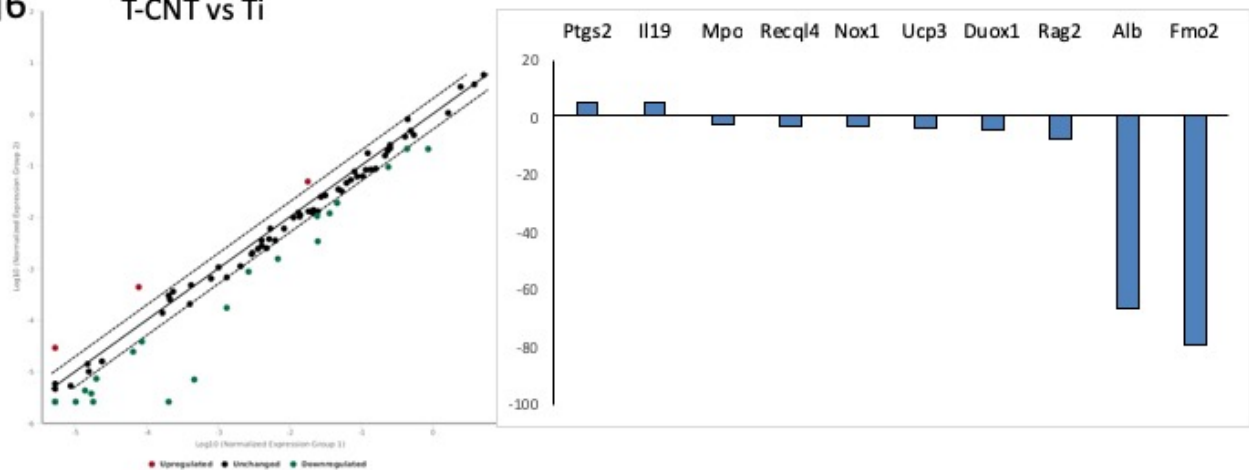
図5 T-CNT vs Control



Alb	Albumin	アルブミン
Cygb	Cytoglobin	サイトグロビン 酸素(O ₂)や一酸化窒素(NO)などと結合
Duox1	Dual oxidase 1	カルシウム依存性NADPHオキシダーゼ(甲状腺ホルモンの合成に必要な活性酸素の生成源)
Fmo2	Flavin containing monooxygenase 2	フラビン含有モノオキシゲナーゼ(NADPH依存的に含窒素,硫黄,リン化合物の酸化を触媒する,一原子酸素添加酵素)
Gpx2	Glutathione peroxidase 2	グルタチオンペルオキシダーゼ
Il19	Interleukin 19	
Mpo	Myeloperoxidase	ミエロペルオキシダーゼ(好中球に存在する酵素で過酸化水素と塩素イオンから次亜塩素酸を産生する)
Ngb	Neuroglobin	ニューログロビン(シグナル伝達に関与)
Nox1	NADPH oxidase 1	NADPHオキシダーゼ(活性酸素の生成源)
Nqo1	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1	NAD (P) H キノン還元酵素(NQO1) . 異物代謝酵素群
Ptgs2	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2	COX2 シクロオキシゲナーゼ
Recql4	RecQ protein-like 4	DNAの複製・修復に関与するヘリカーゼタンパク
Ucp3	Uncoupling protein 3 (mitochondrial. proton carrier)	ミトコンドリア脱共役蛋白質

図6

T-CNT vs Ti



Alb	Albumin	アルブミン
Duox1	Dual oxidase 1	カルシウム依存性NADPHオキシダーゼ(甲状腺ホルモンの合成に必要な活性酸素の生成源)
Fmo2	Flavin containing monooxygenase 2	フラビン含有モノオキシゲナーゼ(NADPH依存的に含窒素,硫黄,リン化合物の酸化を触媒する,一原子酸素添加酵素)
Il19	Interleukin 19	
Mpo	Myeloperoxidase	ミエロペルオキシダーゼ(好中球に存在する酵素で過酸化水素と塩素イオンから次亜塩素酸を産生する)
Nox1	NADPH oxidase 1	NADPHオキシダーゼ(活性酸素の生成源)
Ptgs2	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2	COX2 シクロオキシゲナーゼ
Rag2	Recombination activating gene 2	Rag-2
Recql4	RecQ protein-like 4	DNAの複製・修復に関与するヘリカーゼタンパク
Ucp3	Uncoupling protein 3 (mitochondrial, proton carrier)	ミトコンドリア脱共役蛋白質