

ニホンザルモデルを用いたアレルギー反応機構の解析

今村隆寿 (熊本大・院・医学研究科・分子病理)

アルザス反応は免疫複合体による補体系の活性化によって誘導される即時型の液性免疫応答であり、自己免疫病である SLE や糸球体腎炎等の発病と深く関わっている。以前の共同利用研究で、顕著なフィブリン沈着がみられる細胞性免疫応答の遅延型過敏反応では、マクロファージが発現する tissue factor(TF)によって引き起される血液凝固反応がこの IV 型アレルギー反応の進展に重要な働きを果たすことをサルモデルで明らかにしたが、前年度の研究でアルザス反応では主として浸潤する好中球が TF を発現して血液凝固反応を誘導することが示唆された。そこで、今年度は好中球が TF を実際に産生しているかを調べるために、完全フロイントアジュバントで乳化したウシ血清アルブミン(BSA)10mg を皮下注射して感作したボンネットモンキーに BSA の皮内注射で惹起したアルザス反応皮膚組織で *in situ* hybridization を行った。TF 抗原陽性の好中球は *anti-sense* TF mRNA プロブで陽性で *sense* プロブでは陰性であったので、好中球が TF を産生していることが明らかとなった。さらに、発現している TF が機能的であるかを知るために、活性型血液凝固第 VII 因子(VIIa)の結合能を調べた。ビオチン化した VIIa と切片を反応させ、さらにストレプトアビジン結合 Alkaline Phosphatase を反応させて染色すると、好中球に陽性像が認められ、非ビオチン化した VIIa による前処理によって陽性所見は著明に抑制された。以上の結果から、アルザス反応部に浸潤した好中球は機能的な TF を産生していることが明らかとなった。これは、TF によって誘導された血液凝固反応の結果生じるフィブリン沈着が免疫組織染色によって検出されたことで支持された。

Bウイルス感染に対する遺伝子免疫法の検討

恵美宜彦 (名古屋大・医・一内)

研究の目的は、霊長類へのワクチン用マテリアルの開発とワクチン後の免疫能の解析である。このような新しいワクチンベクターを作成することは広い応用性があり霊長類の生体防御機構を理解する上でも意味がある。私たちは、サルモデルでの遺伝子銃による遺伝子導入法を検討した。

Helios Gene Gun を用いた DNA ワクチン接種を行い、遺伝子ワクチンの可能性について検討した。遺伝子銃は、遺伝子導入のさいウイルスベクターを用いなくてよい、細胞の周期を問わない、核内のみならずミトコンドリアなどの細胞内小器官へも導入できるといった特性を持ち、局所へ効率よく遺伝子導入することが可能といわれている。

Helios Gene gun は DNA プラスミドを微小な金粒子にコートさせ、ヘリウムガス圧を用いて粒子とともに外来遺伝子を細胞や組織に物理的に導入する装置である。Helios Gene Gun の弾となる金粒子と DNA の複合体をいろいろな条件で作製した。

レポーター遺伝子・GFP を挿入した pEGFPC1 plasmid を用い、C3H/HeJ マウスでの *in vitro*, *in vivo* での Genegun の遺伝子導入効率および細胞や組織に及ぼす傷害を評価し、金粒子/DNA 複合体の作成条件や至適条件圧などを解析した。その結果を参考にして、ニホンザルにおける Genegun の遺伝子導入の予備実験を試み、導入効率など解析中である。