

# ImmunoTox Letter

日本免疫毒性学会: The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 29 No.1 (通巻 57 号) 2024. 6 月

— 目次 —

第 31 回日本免疫毒性学会学術年会(予告2) …1  
 兵庫医科大学 黒田 悦史

第 13 回(2023 年度)日本免疫毒性学会学会賞 …3  
 北海道大学大学院 中村 和希

第 13 回(2023 年度)日本免疫毒性学会奨励賞 …7  
 東北大学大学院 黒石 智誠

寄稿: 炎症性疾患とケモカイン受容体 CCR4 ……10  
 近畿大学薬学部 松尾 一彦

Short talks on the shoulders of giants ……15  
 和歌山県立医科大学 佐々木 泉

SOT 参加者からの報告 ……18  
 川崎医科大学 西村 泰光

JSIT ImmunoTox Protocol ……21

ImmunoTox Letter Digest ……24

### 第 31 回日本免疫毒性学会学術年会 (JSIT2024) (予告 2)

日本免疫毒性学会の第 31 回学術年会を下記の要領で開催いたしますので、ご案内申し上げます。多数の皆様のご参加をお待ちしております。詳しくは学術年会ホームページをご覧ください。

(<https://www.japanimmunotox.org/jsit2024/>)

期 日: 2024 年 9 月 19 日(木)~20 日(金)  
 会 場: 兵庫医科大学 平成記念会館  
 住 所: 〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町1-1  
 (下記リンクは兵庫医科大学西宮キャンパス  
[https://www.hyo-med.ac.jp/about/access/campus\\_map/nishinomiya/](https://www.hyo-med.ac.jp/about/access/campus_map/nishinomiya/))

アクセス: JR 新大阪駅から JR 東海道線、阪神電車を乗り継いで武庫川駅にて下車(約 30 分)、または JR 新神戸駅から神戸市営地下鉄、阪神電車を乗り継いで武庫川駅にて下車(約 35 分)。詳しくは下記リンクまで。

(<https://www.japanimmunotox.org/jsit2024/>)

テーマ: 免疫毒性研究から環境・医療を見つめる  
 内 容:

- 特別講演
  1. 呼吸器感作性評価法の開発  
 善本隆之先生(東京医科大学)
  2. アジュバント分子発現弱毒生ワクチンによるエイズ  
 予防・治療ワクチンの開発  
 保富康宏先生(医薬基盤・健康・栄養研究所)
  3. SOT ITSS 招待講演  
 (TBA)
- シンポジウム 1  
 「環境とアレルギー 最新知見」
  1. 環境因子による上皮バリア破壊とアレルギー性炎症  
 森田英明先生(国立成育医療研究センター)
  2. 慢性炎症下における組織常在性記憶 T 細胞を起  
 点とした難治性病態形成の分子・細胞機構  
 平原潔先生(千葉大学)
  3. マウスモデルを用いたアレルギー性鼻炎の増悪・防  
 御因子の探索  
 松下一史先生(兵庫医科大学)
- シンポジウム 2  
 「新しいワクチン・免疫療法の有効性と安全性」
  1. CpG アジュバントによる免疫予防剤: ウイルス感染  
 に対する効果的な防御手段  
 小檜山康司先生(東京大学医科学研究所)
  2. I 型アレルギーに対する免疫療法の最新知見  
 土井雅津代先生(鳥居薬品)
  2. 重症熱性血小板減少症候群に対する新規 mRNA  
 ワクチンの非臨床免疫原性および感染予防効果  
 江頭志織先生(第一三共)
- 学会賞受賞講演  
 環境との相互作用の中で生命を衛る医学の源流: 免  
 疫毒性学 — 細分化された研究から統合的視点をも  
 った研究へ—  
 吉田貴彦先生(旭川医科大学名誉教授)

● 学会奨励賞受賞講演

病原体センサーを介したサイトカイン産生誘導機構に関する研究

佐々木泉先生(和歌山医科大学)

● 試験法ワークショップ

「免疫原性評価」

1. バイオ医薬品の免疫原性予測・評価に関する現状と課題

石井明子先生(国立医薬品食品衛生研究所)

2. バイオ医薬品の免疫原性評価戦略及び事例紹介

浜村えり先生(第一三共)

3. 中外製薬におけるエンジニアリング抗体の免疫原性低減化戦略

橋本永一先生(中外製薬)

4. 総合討論

● 一般演題

発表形式: 口頭、ポスター両方の発表を受け付け、学生・若手発表の部門も従来通り設ける予定。

賞: 年会において優秀な一般演題を発表した会員に対し、「年会賞」、並びに「学生・若手優秀発表賞」を贈呈する予定です。

演題募集期間: 2024年6月10日(月)~7月12日(金)(予定)

年会長: 黒田悦史(兵庫医科大学)

事務局: 第31回日本免疫毒性学会学術年会事務局

〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町1-1  
兵庫医科大学医学部 免疫学講座内  
電話 0798-45-6574、Fax 0798-40-5423

E-mail: [jsit2024@hyo-med.ac.jp](mailto:jsit2024@hyo-med.ac.jp)

ホームページ:

<https://www.japanimmunotox.org/jsit2024/index.html>

参加登録問い合わせ先: 株式会社 センキョウ内

〒983-0035 仙台市宮城野区日の出町2-4-2

電話 022-236-7161、FAX 022-236-7163

E-mail: [31jsit@senkyo.co.jp](mailto:31jsit@senkyo.co.jp)

演題申込締め切り日: 2024年7月12日(金)

(予定)

早期参加登録締め切り日: 2024年7月31日(水)

参加費:

一般会員 事前登録 7,000円(当日 9,000円)

学生会員 事前登録 3,000円(当日 5,000円)

非会員 事前登録 9,000円(当日 11,000円)

その他、新会員、協賛・後援学会会員割引がありますので詳しくは学術年会ホームページをご覧ください。

懇親会: 酒蔵通り 煉瓦館

2024年9月19日(木) 18時30分~(予定)

<https://www.rengakan.com/index.html>

一般(会員・非会員) 事前 8,000円(当日 9,000円)

学生(会員・非会員)、若手優秀発表賞応募者 事前 1,000円(当日 1,000円)

## 第 13 回（2023 年度）日本免疫毒性学会学会賞

生殖免疫毒性という新たな概念の確立



中村和市（北海道大学大学院 獣医学研究院 附属動物病院  
トランスレーショナルリサーチ推進室・客員研究員）

この度は日本免疫毒性学会の学会賞を授賞いただき、大変に光栄に存じます。選考にかかわっていただきました先生方に感謝申し上げます。私のような者が、このような荣誉ある賞をいただけたのも、ただただ免疫毒性研究に長く関わる事ができたことによるものと思います。それを支えてくださりご指導いただいた多くの先生方がおられたことをあらためて感じます。有難うございました。本稿では、これまで構想してまいりました「生殖免疫毒性」の概念につきまして概説させていただきます。

毒性学領域において、生殖毒性はこれまで、生体異物が雌・雄の生殖系や内分泌系に作用することによってもたらされる妊娠への悪影響と理解されてきました。そして、生殖毒性は子における発生・発達毒性との繋がりから生殖発生毒性として扱われてきました。一方、免疫毒性に関しては、発生・発達毒性の観点からの研究はありましたが、生殖毒性の観点からの研究はありませんでした。すなわち、免疫毒性の観点からも生殖毒性の観点からも「生殖免疫毒性」が論じられることはありませんでした。その背景には、おそらく妊娠のメカニズムと免疫系の複雑さによって、免疫毒性と生殖毒性それぞれの専門家が両者のつながりに着目してこなかったのではないかと思います。「生殖免疫」領域に関しては、日本では富山大学の現学長であられる齋藤 滋 先生をはじめとする先生方が優れた業績を残しておられます。

言うまでもなく、MHC クラス I 遺伝子を父親・母親双方から受け継ぐ胎児は母親にとって免疫学的にも自己ではなくセミアロ抗原を持った非自己です。ヒト、げっ歯類の血絨毛胎盤においては胎児由来の絨毛外栄養膜細胞（EVT）は子宮内膜において拒絶されることなく侵入します。そのために、単に母親の免疫機能が抑制されるのではなく、実は胎児側も巧みに母親の免疫反応から逃れる仕組みを備えています。

受精卵は、卵割を繰り返し桑実胚から着床に備え球状の胚盤胞になります。胚盤胞は外周を将来栄養膜細胞になる栄養膜外胚葉によって囲まれ、その内部には胞胚腔（胚盤胞腔）があり、多能性幹細胞の集まりで一部が将来胎児になる内細胞塊が認められます。胎盤形成に際して栄養膜細胞は母親からの酸素や栄養を吸収するための絨毛を形成します。一部の栄養膜細胞は先に述べたように EVT として子宮内膜に遊走し入り込みます。EVT は MHC クラス

I 遺伝子ハプロタイプを母親のみならず父親からも受け継いでいます。ヒトの EVT では古典的 MHC クラス I 分子である HLA-A、HLA-B の発現は抑えられ、細胞傷害性 T 細胞からの攻撃は回避されています。一方、クラス I 分子のうち古典的 HLA-C や非古典的 HLA-E、HLA-G、HLA-F を発現しています<sup>1)</sup>。また EVT は PD-L1 を発現し、細胞傷害性 T 細胞の活性が PD-1 を介して抑制されています。マウスにおいて PD-1/PD-L1 経路が阻害されると胎児死亡率が増加することが報告されています<sup>2)</sup>。

子宮内膜には独特のフェノタイプを持つ子宮 NK (uNK) 細胞が存在し、子宮螺旋動脈のリモデリングに深く関わります。すなわち、螺旋動脈壁を傷害、管腔を拡張して血流を増やし、さらに胎児栄養膜胎盤に向けて螺旋動脈を開放循環に作り変えます。EVT は、螺旋動脈の開放部を一時的に閉鎖し、その後血管壁に入り込むと考えられています<sup>3)</sup>。開放循環の結果、絨毛は母親の血液に浸ります。このことが血絨毛胎盤と呼ばれる所以です。母親由来の子宮 NK (uNK) 細胞ないし脱落膜 NK (dNK) 細胞 (CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>) は、細胞傷害性が末梢血の NK 細胞 (CD56<sup>dim</sup>/CD16<sup>bright</sup>) に比べて弱く、同時に血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の産生能も備えています。uNK/dNK 細胞は、細胞質外ドメインの違いをもとに、免疫グロブリン様受容体である killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR)、leukocyte immunoglobulin-like receptor (LILR) および C 型レクチン様受容体である natural killer group 2 (NKG2) を発現しています。それぞれの受容体には抑制型と活性型があり、お互いがバランスを取りながら胎盤形成に寄与しています<sup>1)</sup>。

KIR の場合、2 つのハプロタイプのうち KIR A は KIR2D1L などの抑制型受容体をコードします。一方、KIR B は KIR2DS1 といった活性型受容体をコードします。KIR のリガンドは HLA-C (C1、C2) です。このうち、EVT の HLA-C2 に対して KIR2DL1 の場合は強い抑制シグナル、KIR2DS1 の場合は活性化シグナルが示されます。KIR2DL1 を介した uNK 細胞活性の抑制が強すぎると VEGF の産生能も低下すると考えられ、螺旋動脈のリモデリングに悪影響を及ぼします。一方で、KIR2DS1 が代償的に働き、正常な胎盤形成が保たれます<sup>4)</sup>。

LILR には 2 つのサブファミリーがあり、LILRA は活性型、LILRB は抑制型受容体です。LILRB のリガンドは HLA-G で EVT に強く発現し、螺旋動脈のリモデリングに深く関わっています<sup>5)</sup>。なお、EVT から分泌される可溶性 HLA-G (sHLA-G) は、KIR2DL4 のリガンドにはなりません、dNK 細胞の細胞質内に取り込まれエンドソームの KIR2DL4 を介して炎症性のみならず血管新生促進サイトカイン (IL-6、IL-8 など) の産生を誘導します<sup>6)</sup>。

NKG2 には 7 つのサブファミリーがあり、このうち NKG2A は抑制型、NKG2C は活性型受容体で、それぞれ CD94 とヘテロダイマーを形成します。uNK 細胞は NKG2A を強発現していますが、HLA-E との結合で抑制性シグナルが優位となります<sup>7)</sup>。NKG2D は活性型受容体で、IFN- $\gamma$  によって発現が誘導され細胞傷害活性が増強されます。

生体異物の免疫系への作用特性によっては流産や早産などのリスクが引き起こされる可能性があります。免疫チェックポイント阻害薬に関しては適切に非臨床評価がなされています。すなわち、ヒト型抗ヒト PD-1 モノクローナル抗体であるオプジーボ (一般名: ニボ

ルマブ) やヒト型抗ヒト CTLA-4 モノクローナル抗体であるヤーボイ (一般名: イピリムマブ) の生殖発生毒性試験において流産、死産の増加や出生児の体重低下などが観察され、その結果をもとに、妊婦又は妊娠している可能性のある女性には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与することとされています<sup>8,9)</sup>。また、dNK 細胞はスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) に対して 5 種ある受容体 (S1PR) のうち S1PR5 を優位に発現しています。S1PR を細胞質に内在化する S1PR アゴニストに曝露されたヒト胎盤中の dNK 細胞においては S1PR5 の発現低下がみられ遊走能のみならず VEGF の産生能が抑制され、EVT の遊走能低下も認められています<sup>10)</sup>。素材に関しても、二酸化チタン・ナノ粒子の妊娠期曝露によって dNK 細胞数 (原文では脱落膜胎盤中の uNK 細胞数) が減少し胎盤形成が阻害されたとの報告があります<sup>11)</sup>。

Th1 細胞、Th2 細胞以外にも、Tfh 細胞、Treg 細胞、Th17 細胞、Th9 細胞、Th22 細胞など様々な CD4 T 細胞が見いだされ、Th1/Th2 パラダイムは意味を持たないとも言われています。一方で、Th1/Th2 パラダイムを再評価する動きもあります。私は、CD4 T 細胞の専門家ではありませんが、扱ってきた事象から経験的に Th1/Th2 パラダイムには意義があるのではないかと考えています。さて、生殖免疫においては“Th2 phenomenon”と呼ばれる考え方があります。排卵後発達する黄体から産生される黄体ホルモン (プロゲステロン) は Th2 細胞への分化を促進します<sup>12)</sup>。Th2 細胞からの IL-4 は、受精卵の着床後、胎児絨毛の外側に沿って認められる合胞体性栄養膜細胞からのヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) の産生を刺激し妊娠の維持に寄与します<sup>13)</sup>。ちなみに合胞体性栄養膜細胞は MHC 分子を発現していないとされています。その結果、妊娠の初期において母親の免疫系は Th1 細胞に対して Th2 細胞が優位となり<sup>14,15)</sup>、同時に胎児に対する細胞性免疫は抑制されると考えられます。生体異物の曝露によっては Th1 細胞の割合が増えると流産のリスクが増加することが示されています<sup>16)</sup>。このとき、Treg 細胞の割合も増えるので、一見 Treg 細胞の割合が増えるのに流産が起きるのかと思われそうですが、この事象は Treg 細胞が胎児受け入れのための免疫抑制機能を働かせるのではなく、増加した Th1 細胞を抑えようとしているものと考えられます。Treg 細胞は免疫抑制 T 細胞ではなく、文字通り免疫調節 T 細胞と言えます。

最後に、生殖免疫毒性研究の意義についてお話いたします。不妊症、不育症は、国の少子化対策における課題の 1 つとして取り上げられますが、何よりお子さんを待望しておられるご夫婦にとりましては深刻な問題です。このうち不育症 (recurrent pregnancy loss) は、受精はするが流産や死産を 2 回以上繰り返し、出産に至らない状態と定義されますが、最近までは不妊の概念のなかで考えられてきました。不育症に関しては、年間約 3 万人が診断され、患者総数は 30~50 万人程度と推定されています<sup>17)</sup>。不妊治療に関してはこれまで生殖補助医療など広く保険適用の拡大が図られてきました。一方で不育症に関しては対応が遅れていましたが、最近では自己抗体の血液検査、流産胎児の染色体検査、ヘパリン製剤の自己注射に保険が適用されています。不育症のリスク要因としては、子宮の形態異常による着床や胎児の発達障害、甲状腺の機能異常、親の均衡型転座などの染色体異常に伴う胎児

胚の異常、抗リン脂質抗体などの自己抗体などが原因とされる血栓などが考えられています<sup>17)</sup>。加えて、医薬品や環境化学物質などによる意図しない生殖免疫毒性を不育症の原因の1つとして考えていく必要があると考えています。

今後、生殖免疫毒性研究が進み、数多くの知見が集まり議論されていくことを期待して、本稿を終えたいと思います。

#### 引用文献

- 1) Díaz-Hernández, I et al., Hum Reprod Update 27, 720–746, 2021.
- 2) Guleria, I et al., J Exp Med 202, 231–237, 2005.
- 3) Zhang, L et al., Placenta 141, 51–56, 2023.
- 4) Hiby, SE et al., J Immunol 192, 5069–5073, 2014.
- 5) Wang, J et al., J Reprod Immunol 155, 103764, 2023.
- 6) Rajagopalan S, Cell Mol Immunol 11, 460–466, 2014.
- 7) Kusumi, M et al., J Reprod Immunol 70, 33–42, 2006.
- 8) オプジーボ：医薬品インタビューフォーム（2024年2月改訂）  
[https://www.opdivo.jp/system/files/2024-02/OPD\\_IF\\_0.pdf](https://www.opdivo.jp/system/files/2024-02/OPD_IF_0.pdf)（閲覧日：2024年6月12日）。
- 9) ヤーボイ：医薬品インタビューフォーム（2023年11月第18版）  
[https://file.bmshealthcare.jp/bmshealthcare/pdf/interview/YERVOY\\_InterviewForm.pdf](https://file.bmshealthcare.jp/bmshealthcare/pdf/interview/YERVOY_InterviewForm.pdf)（閲覧日：2024年6月12日）。
- 10) Zhang, J et al., Hum Reprod 28, 3026–3037, 2013.
- 11) Zhang, L et al., Int J Nanomedicine 13, 777–789, 2018.
- 12) Piccinni, MP et al., J Immunol 155, 128–133, 1995.
- 13) Saito, S et al., Biochem Biophys Res Commun 231, 429–434, 1997.
- 14) Lin, H et al., J Immunol 151, 4562–4573, 1993.
- 15) Saito, S et al., Clin Exp Immunol 117, 550–555, 1999.
- 16) Sakakibara, M et al., J Toxicol Sci 47, 327–336, 2022.
- 17) 不育症管理に関する提言 2021。「不育症管理に関する提言」改訂委員会 令和3年3月31日（初版）令和3年6月7日（改訂）



瑠璃光院にて（2023年12月）



龍安寺にて（2024年3月）

## 第 13 回 (2023 年度) 日本免疫毒性学会 奨励賞

金属アレルギーの発症メカニズムと予防・治療法に関する研究

黒石智誠 (東北大学大学院歯学研究科口腔分子制御学分野)

この度は名誉ある 2023 年度日本免疫毒性学会奨励賞を賜り、大変光栄に存じます。ご推薦頂いた大阪大学 立花雅史先生、選考に携われた先生方、これまでご指導を賜りました諸先生方に深謝申し上げます。

金属アレルギーは細胞性免疫依存の IV 型アレルギーに分類され、接触性皮膚炎などを引き起こします。様々な金属アレルゲンのうち、ニッケル (Ni) は、抗原性検査における陽性率の高さなどから最も重要視されています。現在、金属アレルギーの標準的な治療法は原因金属の除去であり、ステロイド外用剤や抗炎症剤などが用いられる場合もあります。しかしながら、いずれも対症療法であり、より根本的な新しい治療法が望まれています。私が所属する研究室では 2007 年にグラム陰性菌の菌体成分であるリポポリサッカライド (LPS) をアジュバントとして用いる金属アレルギーマウスモデルを報告しました (Clin. Exp. Allergy, 2007)。本モデルでは Ni と LPS を腹腔内投与し Ni 感作を行います。2 週間後、耳介に Ni 溶液を皮下注射し耳介部の腫脹を指標としてアレルギー反応を測定します。本稿ではこのマウスモデルを用いた研究成果についてご紹介いたします。

水溶性ビタミン B 群の一種であるビオチン (ビタミン H) は細胞内の 5 種類のカルボキシルラーゼの補酵素として機能し、糖新生や脂肪酸合成、脂肪酸代謝、アミノ酸代謝など、生命活動に必須の代謝経路に関与しています。ビオチン欠乏により皮膚炎症が誘導されること、金属アレルギーとの関連が報告されている掌蹠膿疱症に対してビオチン投与が治療効果を示すことなど、ビオチンと金属アレルギーとの関連が示唆されていました。そこで私達は、ビオチン除去飼料を給餌することによりビオチン欠乏マウスを作製し、Ni アレルギーに対するビオチン欠乏の影響を解析しました (J. Nutr., 2009)。その結果、ビオチン欠乏マウスでは Ni アレルギー性炎症が有意に増強していました。私たちの Ni アレルギーマウスモデルは IL-1 に依存しますが、ビオチン欠乏マクロファージでは LPS 刺激による IL-1 $\beta$  産生が有意に増強していました。さらに、ビオチン含有飲料水によるビオチン投与により Ni アレルギー性炎症が有意に抑制されることも見出しました。これらの結果は、ビオチン欠乏に伴う IL-1 $\beta$  産生の増強が Ni アレルギーを悪化させ、ビオチン投与が Ni アレルギー治療薬となり得ることを示唆しています。

Ni やコバルトなどの金属アレルゲンは低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor, HIF) を活性化します。マウス真皮線維芽細胞を Ni で刺激すると HIF-2 $\alpha$  依存的に誘導型一酸化窒素合成酵素の発現と NO 産生が誘導され、IL-1 $\beta$  との共刺激により NO 産生が有意に増強されます (Tox. Sci., 2013)。さらに、HIF-2 $\alpha$  阻害薬は *in vivo* において Ni アレルギーを

有意に抑制し、Ni は NO 産生誘導を介して Ni アレルギーを増強していることが示唆されました。

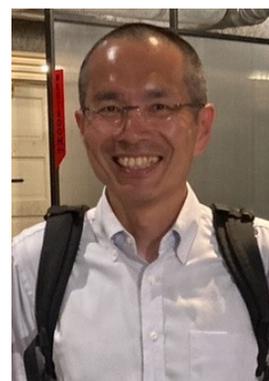
Ni を含めた金属イオンはハプテンとして自己タンパク質と結合することにより免疫原性を発揮すると考えられています。金属イオンはヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システインなどの側鎖と配位結合すると考えられていますが、金属イオンと結合することにより自己タンパク質に構造変化が誘導されるのか？プロセッシングを経てもハプテン化は維持されるのか？そもそも、特異的な金属イオン結合タンパク質が存在するのか？など、不明な点が多くあります。上述の様に、私達のマウスモデルでは LPS をアジュバントとして用います。LPS は toll-like receptor-4 を介して種々の炎症メディエーターを誘導することから、LPS によって Ni 結合タンパク質が誘導されるのではないかと仮説に基づき検討を行いました。その結果、LPS 投与マウスから調製した血清 (LPS-serum) には Ni アレルギーの惹起相を増強する活性が認められました。そこで、Ni アフィニティーカラムクロマトグラフィーとゲルろ過クロマトグラフィーを用いて、LPS-serum から Ni 結合タンパク質の精製を試みました。その結果、CXC chemokine ligand 4 (CXCL4) を新規 Ni 結合タンパク質として精製しました (Clin. Exp. Allergy, 2017)。リコンビナントタンパク質を用いた解析から、CXCL4 は Ni アレルギーの感作相および惹起相を増強することが明らかとなりました。

次いで、私たちは Ni アレルギーに関与する抗原提示細胞は Ni イオン結合能を有するのではないかと仮説に基づき、金属イオン蛍光プローブである Newport Green (NPG) を用いて、リンパ器官および末梢組織における樹状細胞の Ni 結合能を解析しました (Sci. Rep., 2020)。その結果、皮膚所属および顎下リンパ節において、局所から所属リンパ節へと遊走して来た migratory DC は、腸間膜および腸骨リンパ節の migratory DC に比較して有意に高い Ni 結合能を示しました。これに対し、リンパ節に常在している resident DC は migratory DC よりも低い Ni 結合能を示し、各リンパ節間に顕著な差は認められませんでした。皮膚所属リンパ節の migratory DC で Ni 結合能が高いという結果は Ni アレルギーの主要な症状が皮膚炎であるということにも矛盾しないと考えます。また、IL-1 $\beta$  の皮下投与により皮膚局所の抗原提示細胞が活性化され MHC class II high となります。そして、この MHC class II high の DC が高い Ni 結合能を示しました。さらに、この Ni 結合性 DC を Ni 感作マウスの耳介に皮下接種することにより有意な Ni アレルギー性炎症が誘導されました。これらの結果は Ni 結合性 DC の存在を示唆するものと考えますが、具体的な Ni レセプターなど詳細なメカニズムの解明には更なる検討が必要です。

抗原特異的免疫療法とは、積極的なアレルゲン投与により免疫寛容を誘導するアレルギー治療法であり、アレルゲンの投与方法から経口免疫療法、皮下免疫療法、経皮免疫療法、舌下免疫療法 (sublingual immunotherapy; SLIT) などに分類されます。この内、口腔粘膜の免疫寛容的性質を利用した SLIT は副反応が少ない比較的安全で効率的な抗原特異的免疫療法として、スギ花粉やハウスダストなどによるアレルギー性鼻炎の治療法として用いら

れています。そこで、SLITによるNiアレルギーの抑制について検討しました（第29回学術年会、投稿準備中）。その結果、Ni結合タンパク質であるCXCL4とNiを用いたSLITによりNiアレルギーが抑制され、この抑制効果は顎下リンパ節で誘導された制御性T細胞に依存することが示されました。

金属アレルギーはIV型アレルギーの典型例として免疫学の教科書にも掲載されています。歯科医療では補綴修復物や歯列矯正器具などの金属製品を多用しており、歯学部免疫学教室に在籍する研究者として金属アレルギーは最重要課題の一つです。金属アレルギーに限らず、全てのアレルギー疾患において抗原曝露の回避が最も確実な対処法であることは言うまでもありません。しかしながら、金属製品が多用されている現代社会において「メタルフリーな生活」は容易ではなく、より根本的な新規治療法の開発が望まれています。今回の受賞を励みとしてさらに研究を発展させ、金属アレルギーの本質解明と治療法の開発に取り組んでいきたいと思えます。今後とも日本免疫毒性学会の諸先生方にはご指導ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。



黒石 智誠 先生

## 寄稿

炎症性疾患とケモカイン受容体 CCR4

松尾一彦、酒井貴之、中山隆志  
(近畿大学薬学部化学療法学研究室)

### はじめに

ケモカインは細胞遊走活性を有するサイトカインの一群であり、ヒトでは 50 種類近くが報告されている。また、レセプターは全て 7 回膜貫通 3 量体 G タンパク共役型であり、18 種類の機能的レセプターが同定されている。様々な機能的サブセットから構成されているリンパ球は、特定のケモカインとケモカイン受容体によって、それぞれの生体内における移動と特定組織微小環境へのホーミングが制御され、免疫システムの形成および恒常性維持に関与している。一方で、種々の病的状況下において様々なケモカインの発現が異所性に誘導されることが報告されており、それによって促進されるリンパ球の組織浸潤が疾患特有の病態形成に密接に関わると考えられている。本稿では、炎症性疾患の発症に関与する Th2 細胞や Th17 細胞といったヘルパー T 細胞に選択的に発現するケモカイン受容体 CCR4 の病態形成における役割について、著者らの研究成果を交えて紹介したい。

### ケモカイン受容体 CCR4

IL-8 や MCP-1 などの初期のケモカインは、主に好中球やマクロファージの細胞遊走因子として同定され、炎症性メディエーターとしての役割が注目された。その後、リンパ球や樹状細胞に特異的に作用するケモカインが多数同定され、ケモカイン系が炎症反応だけでなく広く免疫応答の制御において重要な役割を果たすことが示されてきた。著者らの研究グループは複数のリンパ球や樹状細胞特異的ケモカインおよびケモカイン受容体を同定し、リンパ球や樹状細胞の体内動態や局在の制御機構およびその生理的および病理的意義を明らかにしてきた [1]。

ケモカイン受容体 CCR4 は thymus and activation-regulated chemokine (TARC)/CCL17 および macrophage-derived chemokine (MDC)/CCL22 の共有受容体であり、その発現は T 細胞に限局されている [1, 2]。初期の報告で CCR4 は Th2 細胞に選択的に発現することが報告され、Th2 型免疫応答のアレルギー性疾患における役割が示唆された。しかし、その後、CCR4 は Th2 細胞だけでなく、Th17 細胞や制御性 T 細胞 (Treg) などの他の T 細胞サブセットにも発現することが明らかとなり [1, 2]、また、CLA+皮膚指向性 T 細胞に発現することから、広く炎症性皮膚疾患において多様な役割を果たしていると推察された。

### アトピー性皮膚炎と CCR4

ケモカイン受容体 CCR4 は当初 Th2 細胞に選択的に発現することが報告されたことから、Th2 関連のアレルギー性疾患での役割が精力的に研究されてきた [2]。特にアトピー性皮膚炎患者では、CCR4 リガンドである TARC/CCL17 および MDC/CCL22 が血中で上昇することが明らかとなり、病態や治療効果とよく相関することが報告された [2]。実際にアトピー性皮膚炎の診断キットとして血清 CCL17 値を測定するアラポート TARC<sup>TM</sup>が臨床適用されている。

しかしながら、アトピー性皮膚炎の発症に CCR4 が直接関与する証明はされていなかった。その一つの要因に、従来のアトピー性皮膚炎モデルマウスでは痒みを伴う皮膚症状は誘発できるものの、CCL17 や CCL22 の発現誘導が低く、ヒトの免疫学的特徴を十分に再現できていなかったことが考えられる。そこで著者らは、アトピー性皮膚炎患者皮膚で高発現する TSLP (胸腺間質性リンパ球新生因子) が CCL17 や CCL22 の誘導因子として働くことに着目し、TSLP 誘導を促進するフタル酸ジブチル、また、ビタミン D3 アナログ (MC903) や黄色ブドウ球菌由来毒素である  $\delta$ -toxin を用いて、従来モデルよりも CCL17 と CCL22 を高発現する新規マウスモデルを確立してきた [3-5]。そしてこれらのマウスモデルを用いることによって、CCL22-CCR4 系が Th2 細胞の皮膚浸潤に寄与し、アトピー性皮膚炎症状の誘発に直接関与することを明らかにした (図 1)。

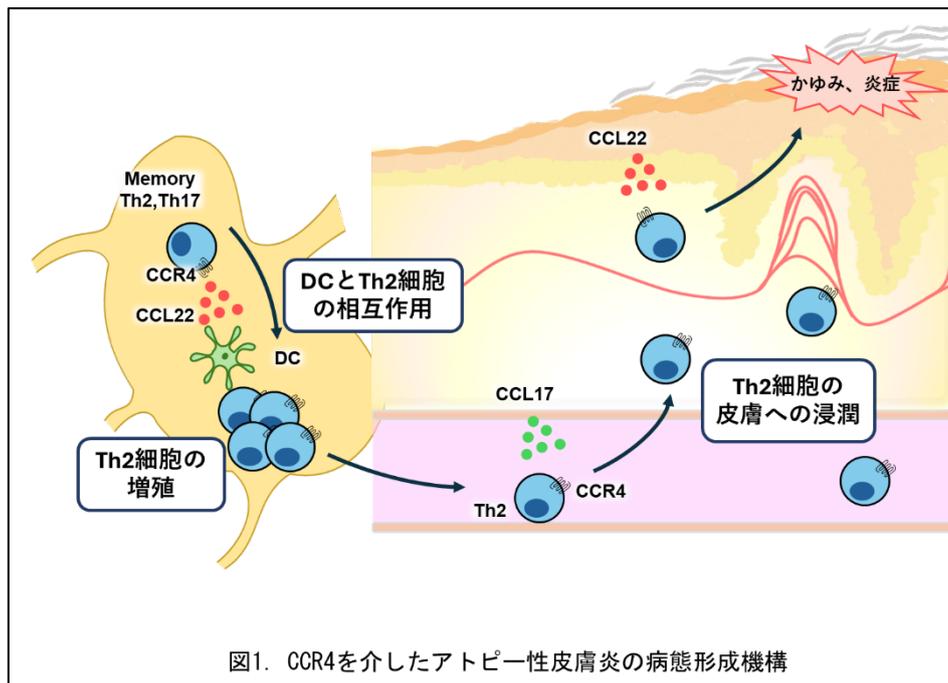


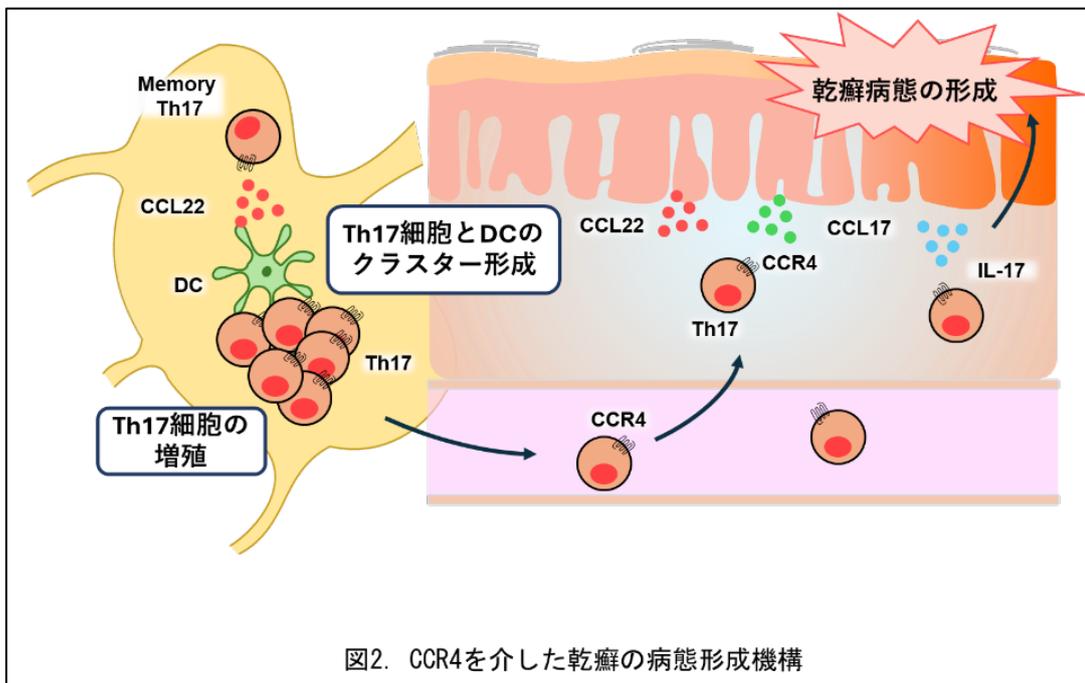
図1. CCR4を介したアトピー性皮膚炎の病態形成機構

### 乾癬と CCR4

乾癬病態の形成においては、Th17 細胞が主要な役割を果たす。IL-23 による刺激を受けた Th17 細胞は、IL-17 を産生し、乾癬に特徴的な皮膚肥厚や鱗屑などの症状を引き起こす。Th17 細胞にはケモカイン受容体 CCR4 と CCR6 が選択的に発現し、乾癬患者の病変皮膚では

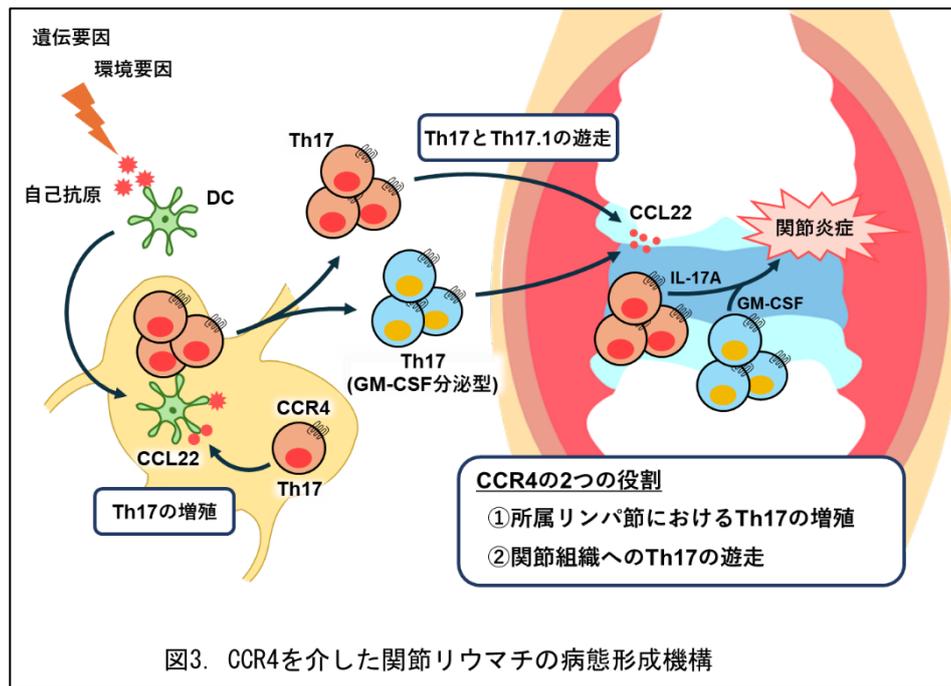
CCR6 のリガンドである CCL20 が上昇する [6]。しかしながら、CCR6 欠損マウスでは乾癬病態が抑制されるが、Th17 浸潤には影響がなく、ヒトの皮膚にはほとんど存在しない IL-22 を産生する  $\gamma\delta$ T 細胞を介して病態形成に関与することが報告されている [7]。

一方、CCR4 のリガンドである CCL17 や CCL22 は患者の病変皮膚では発現しておらず、乾癬における CCR4 の寄与は不明であった。著者らは、乾癬のリンパ節において活性化樹状細胞が CCL22 を分泌し、CCR4 を発現するメモリーTh17 細胞と相互作用することで、Th17 細胞の増殖に関与することを見出した [8]。そして、イミキモド誘発性乾癬モデルマウスと IL-23 誘発性乾癬モデルマウスにおいて、CCR4 欠損マウスでは所属リンパ節での Th17 細胞の割合が減少し、病態形成が抑制されることを明らかにした。これらの結果から、CCR4 は Th17 細胞の皮膚浸潤には関与せず、リンパ節での Th17 細胞サブセットの増殖を介して乾癬病態形成に関与することを初めて明らかにした (図 2)。



### 関節リウマチと CCR4

Th17 細胞は皮膚疾患以外にも、多発性硬化症や関節リウマチなどの自己免疫性疾患の病態形成にも密接に関与することが明らかにされている。著者らは、コラーゲン誘発関節リウマチモデルにおいて、CCR4 リガンドである CCL22 の発現が関節部位で上昇することで、Th17 細胞の関節部位への浸潤に関与することを示した [9]。また、本モデルにおいても所属リンパ節において CCL22 を分泌する樹状細胞と CCR4 発現メモリーTh17 細胞の相互作用を介した Th17 細胞の増殖が認められた。これらの結果は、皮膚疾患に限らず、CCR4 は Th17 細胞の炎症巣への浸潤やリンパ節での増殖を介して Th17 細胞が関与する自己免疫性疾患の病態形成においても重要な役割を果たすことを示している (図 3)。



おわりに

著者らは、様々な炎症性疾患モデルにおいて、ケモカイン受容体 CCR4 がヘルパーT 細胞サブセットの選択的な組織浸潤やリンパ節での増殖を介して病態形成に関与することを明らかにしている。さらに、著者らは CCR4 を選択的に阻害する化合物を有しており、この CCR4 阻害剤の投与によってこれらの病態を軽減できることから、CCR4 は Th2 や Th17 細胞が関わる炎症性疾患の新たな治療標的分子となるとことが期待される。

さらに、脳内での炎症に伴う免疫細胞、特にヘルパーT 細胞サブセットの浸潤がうつ病態にも関与することが明らかになりつつある。著者らは炎症誘発うつモデルマウスにおいて CCR4 は Treg の選択的脳内浸潤を介してうつ症状を抑制することを明らかにした [10]。このことは、ケモカイン受容体 CCR4 がアレルギー疾患や自己免疫疾患に限らず、精神疾患の発症にも関与することを示している。

参考文献

1. Zlotnik A and Yoshie O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity*. 2012;36(5):705-16.
2. Yoshie O and Matsushima K. CCR4 and its ligand: from bench to bedside. *Int Immunol*. 2015;27(1):11-20.
3. Matsuo K, Nagakubo D, Komori Y, Fujisato S, Takeda N, Kitamatsu M, Nishiwaki K, Quan YS, Kamiyama F, Oiso N, Kawada A, Yoshie O, Nakayama T. CCR4 is critically involved in skin allergic inflammation of BALB/c Mice. *J Invest*

- Dermatol. 2018;138(8):1764–1773.
4. Matsuo K, Hatanaka S, Kimura Y, Hara Y, Nishiwaki K, Quan YS, Kamiyama F, Oiso N, Kawada A, Kabashima K, Nakayama T. A CCR4 antagonist ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions induced by dibutyl phthalate and a hydrogel patch containing ovalbumin. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:1437–1444.
  5. Sato M, Matsuo K, Susami Y, Yamashita A, Hayasaka H, Hara Y, Nishiwaki K, Oiso N, Kawada A, Otsuka A, Nakayama T. A CCR4 antagonist attenuates atopic dermatitis-like skin inflammation by inhibiting the recruitment and expansion of Th2 cells and Th17 cells. *Int Immunol.* 2023;35(9):437–446.
  6. Mabuchi T, Chang TW, Quinter S, Hwang ST. Chemokine receptors in the pathogenesis and therapy of psoriasis. *J Dermatol Sci.* 2012;65(1):4–11.
  7. Cochez PM, Michiels C, Hendrickx E, Dauguet N, Warnier G, Renauld JC, Dumoutier L. Ccr6 is dispensable for the development of skin lesions induced by imiquimod despite its effect on epidermal homing of IL-22-producing cells. *J Invest Dermatol.* 2017;137(5):1094–1103.
  8. Matsuo K, Kitahata K, Kaibori Y, Arima Y, Iwama A, Ito M, Hara Y, Nagakubo D, Quan YS, Kamiyama F, Oiso N, Kawada A, Yoshie O, Nakayama T. CCR4 involvement in the expansion of T helper type 17 cells in a mouse model of psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2021;141(8):1985–1994.
  9. Honzawa T, Matsuo K, Hosokawa S, Kamimura M, Kaibori Y, Hara Y, Nagakubo D, Oiso N, Kawada A, Otsuka A, Yoshie O, Nakayama T. CCR4 plays a pivotal role in Th17 cell recruitment and expansion in a mouse model of rheumatoid arthritis. *Int Immunol.* 2022;34(12):635–642.
  10. Hara Y, Honzawa T, Kitagawa M, Sano R, Matsuo K, Nakayama T. Aggravation of lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in CCR4-deficient mice. *J Pharmacol Sci.* 2023;153(3):89–93.

## Short talks on the shoulders of giants

インフラマソームはどこで活性化されるのか？

佐々木泉

(和歌山県立医科大学 先端医学研究所 生体調節機構研究部)

このたび日本免疫毒性学会の評議員を拝命いたしました和歌山県立医科大学先端医学研究所生体調節機構研究部の佐々木泉と申します。ご推薦、ご承認を賜りました先生方に心より感謝申し上げますとともに、本紙面をお借りして皆様にご挨拶申し上げます。

今回、編集委員の先生方から「研究内容（インフラマソーム）にまつわる話や、最近のインフラマソームの話をエッセイ的にまとめていただきたい」とのお話をいただきました。乱筆乱文ではございますが、ご一読下されれば幸いです。

インフラマソームは、釈迦に説法になりますが、炎症性サイトカインインターロイキン- $1\beta$  (interleukin- $1\beta$ : IL- $1\beta$ )の産生誘導に必須のタンパク質複合体であり、微生物感染防御、発熱、老化、がんの増大<sup>(1)</sup>、免疫毒性の観点ではカーボンナノチューブやCAR-T細胞療法といった新規モダリティによる組織障害など<sup>(2, 3)</sup>、様々な生理現象に密接に関与します。インフラマソームは細胞内病原体センサー (NLRP3 や PYRIN など)、タンパク質切断酵素プロカスペーゼ-1、その両者をつなぐアダプター分子ASCから構成されており、病原体センサーの名前を冠してNLRP3インフラマソームやPYRINインフラマソームなどと呼ばれています。インフラマソームセンサーとしてはNLRP3<sup>(4, 5)</sup>、NLRC4<sup>(6)</sup>、AIM2<sup>(7, 8)</sup>、PYRIN<sup>(9)</sup>、NLRP6<sup>(10)</sup>などが知られており、いずれもトップジャーナルに論文が掲載されています。近年は、「インフラマソームはどこで活性化されるのか？」という点が注目されています。

これまでNLRP3インフラマソームの活性化の場としてゴルジ体が知られていましたが<sup>(11)</sup>、最近、二本鎖DNAの細胞質内センサー経路に必須のアダプター分子Stimulator of IFN genes (STING)がゴルジ体においてプロトンチャネルとして機能すること、この機能がNLRP3インフラマソームの活性化に必要であることが報告されました<sup>(12)</sup>。STINGが活性化するとゴルジ体に移行することや、STINGがNLRP3インフラマソームの活性化に関与することは知られていましたが、STINGがプロトンチャネルとして機能するという発見は誰も想像していなかった知見であり、最近のホットトピックになっています。

ゴルジ体は、NLRP3インフラマソームだけでなく、PYRINインフラマソームの活性化においても注目されています。これまでPYRINインフラマソームの活性化には、低分子量GTPアーゼRhoAの細胞膜から細胞質への移行が関与すると考えられてきました<sup>(9)</sup>。しかし、京都大学小児科八角高裕先生らの研究グループは、低分子量GTPアーゼCDC42のゴルジ体移行がPYRINインフラマソームの活性化に関与するというユニークな分子機構を明らかにしました<sup>(13)</sup>。同年、スイスの研究グループもCDC42がPYRINインフラマソームの活性化に必要であることをCRISPR-Cas9システムを用いたスクリーニング系により明らかにしており<sup>(14)</sup>、

この分子機構の再現性・汎用性が得られています。

私共も、「インフラマソームはどこで活性化されるのか？」という点は興味深く思っており、今回、コレラ毒素が小胞体に到達・蓄積し、小胞体ストレス応答を誘導すること、小胞体ストレスセンサーIRE1 $\alpha$ がNLRP3インフラマソームとPYRINインフラマソームの両方のIL-1 $\beta$ 産生誘導に必要であることを明らかにすることができました<sup>(15)</sup>。この論文は運良く*Cell Reports*にアクセプトされましたが、一番の要因は「学会発表で頂いた先生方のコメントを採用した」ことだと考えております。Reviewer #3のコメントが想定外のもので、どう対処したらよいのかわからず半ば諦めかけていたのですが、本学会等で発表した際に受けた質問に同様のものがあり、質問者の先生とdiscussionすることでReviewer #3の意図を理解することができ、活路を見出せたのは非常に大きかったです。また、ある先生は私の発表を聞いて帰り際に声をかけてくださり、有用な実験情報を提供していただいたおかげで綺麗な免疫染色の写真を得ることができました。このような、プロフェッショナルな先生からの客観的なアドバイスは、自分一人で考えていては決して得ることのできない貴重な情報であり、今回それを得られたからこそ結果につながったと理解しております。やはり対面での学会が再開された効果でしょうか、Zoomではここまで有用な情報は得られなかったでしょうし、論文のアクセプトは難しかったと思います。人との出会いは一期一会であり、その刹那の時間を大切にできるかどうかで運命も決まるのだなと思いました。研究できるありがたみに感謝しつつ、今後も本学会に参加できるよう、日々精進いたします。

#### 参考文献

1. N. Caronni *et al.*, *Nature* **623**, 415–422 (2023).
2. T. Giavridis *et al.*, *Nature medicine* **24**, 731–738 (2018).
3. S. Omori *et al.*, *Cell reports* **34**, 108734 (2021).
4. S. Mariathasan *et al.*, *Nature* **440**, 228–232 (2006).
5. F. Martinon *et al.*, *Nature* **440**, 237–241 (2006).
6. F. S. Sutterwala *et al.*, *The Journal of experimental medicine* **204**, 3235–3245 (2007).
7. T. Fernandes-Alnemri *et al.*, *Nature* **458**, 509–513 (2009).
8. V. Hornung *et al.*, *Nature* **458**, 514–518 (2009).
9. H. Xu *et al.*, *Nature* **513**, 237–241 (2014).
10. H. Hara *et al.*, *Cell* **175**, 1651–1664. e1614 (2018).
11. J. Chen *et al.*, *Nature* **564**, 71–76 (2018).
12. B. Liu *et al.*, *Science* **381**, 508–514 (2023).
13. M. Nishitani-Isa *et al.*, *The Journal of experimental medicine* **219**, (2022).
14. L. Spel *et al.*, *Cell reports* **41**, 111636 (2022).
15. I. Sasaki *et al.*, *Cell reports* **43**, 113981 (2024).



佐々木 泉 先生

## SOT 参加者からの報告

～国際学会に行こう！“10のmailよりも1つのmeet”～

西村泰光  
川崎医科大学衛生学

ソルトレイクシティでの The SOT 63rd Annual Meeting (2024, 3/10-14) に参加してきました。当地での開催は2010年以来で、当時、私はSOTへの参加が初めてでしたので、再訪という意味で、感慨深い思いでした。また、今回のSOT meetingはJSITとしても縁の深い免疫毒性研究者であるDr. Dori R. Germolecがpresidentを務めるmeetingということもあり、大変楽しみにしていました。そして、コロナ禍を越えて、JSITとSOTの専門部会 Immunotoxicology Specialty Section (ITSS) との交流の再活性化を果たすということが、本学会連携学会委員会の委員長を務めます私に与えられた今回の使命でありました。ただ日程的には、直前に鹿児島で開催の日本衛生学会学術総会(3/7-9)があり、ソルトレイクシティ国際空港に11日の16時に到着するという慌ただしいスケジュールとなりました(着陸直前には上空から北米最大の塩湖Great Salt Lakeが見えました)。18時から開催のITSS meetingに間に合うかギリギリの日程だったのですが、幸い予定通りに会場に到着し、胸をなで下ろしました。Meetingには、本学会の会員からは角田正史先生(防衛大)、Pittsburgh大学に留学中の岡村和幸先生(国立環境研)が、そのほか日本からは安孫子ユミ先生(長崎大学)、菅野さな枝先生(名古屋市立大学)が出席されました。まずは、reception前のフリースタイルタイムに、ITSS past presidentsのDr. Victor J. Johnson, Dr. Laine Peyton Myers, Dr. Emanuela Corsini, Dr. Jamie DeWittらと再開を喜び合い、親交を温めました。そして早速、VicとPeytonに第31回日本免疫毒性学会学術年会にITSSメンバーを演者として招聘したいことを相談し、その場で具体的な演者候補の議論が一気に進みました。テーブルを移ってJamieにも意見を求めました。また、岡村先生も積極的に輪に入り、自己紹介やPittsburghでの話題などで盛り上がり、新たな友好の礎となりました。

翌日、私自身もImmunotoxicology IIのポスターセッションにて、悪性中皮腫に対する免疫チェックポイント阻害薬の治療奏効に関わる患者末梢血リンパ球の免疫関連遺伝子の発現動態の特徴、およびその細胞培養実験による検証結果について発表する機会を頂きました。またその際には、Dori先生が立ち寄って下さり、大変嬉しかったです(思わずセルフイーをパチリ!)。プログラムとしては、Vic and Emanuelaがchairを務めたSymposium session: State-of-the-Art In Vitro Immune Modeling: The Beginning of a Journey toward AOPs and Improved Safety Assessmentが楽しみでしたが、Organs-on-Chips, AOPs, PFAS, Risk Assessmentと基礎研究からレギュラトリーサイエンスまで幅広い内容で、何れも興味深く拝聴し、多くの学びがありました。また、偶々会場から出てこられたナノ毒性研究で御高名

な Dr. Guenter Oberdoerster にお会いし、粒子状・繊維状物質の免疫毒性研究に携わってきた者として胸熱な瞬間もありました（記念写真を御願いしました！）。

以上、現地3泊という短い期間ではありましたが、濃縮された時間の中で刺激を受けた充実感と、JSIT ITSS friendshipの再活性化の役目も少し果たせた安堵感を得た学会参加でした。参加報告として、改めて皆様にお伝えしたいことは、“10のmailよりも1つのmeet”の力です。世界のどこでも virtual meeting で交流できる時代ではありますが、何事も人の情熱が原点であり、その熱量は出会って初めて伝わる部分が少なくありません。それは、伝える側でも受ける側でも大切なことだと思います。将来、そんな熱量も virtual で伝わる時代が来るかもしれないですが、未だ未だ遠い未来でしょう。研究の導火線も今も昔も情熱だと私は思います。若いみなさん、ぜひ SOT に行きましょう！オンサイトの参加はプライスレスな意義があります！2025年はオーランドです！（SOT2025 March 16-20, Orlando, Florida）2025年には IUTOX が北京で開催されます（ICT2025 October 15-18, Beijing, China）。国際学会に参加しようー！！



ITSS meetingにて。左から、岡村先生、私、いつもフレンドリーな Peyton、Vic  
(撮影：角田正史先生)



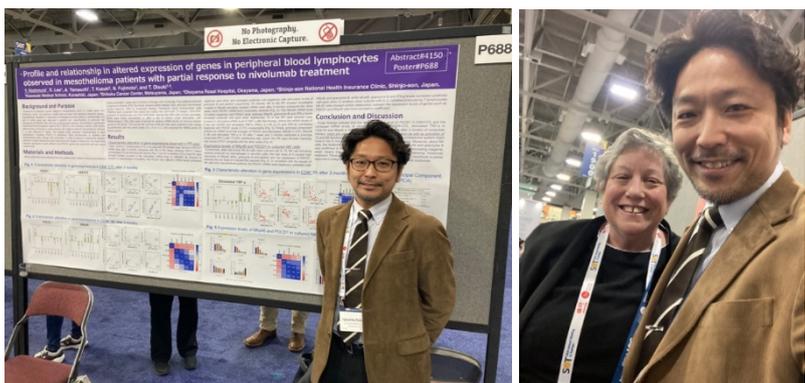
いつも楽しい Jamie ♪ありがとうございます！



ちょっと緊張?! 自己紹介する岡村先生、受け止める Peyton と Vic !



ソルトレイクシティに到着して未だ2時間弱の私。



Immunotoxicology II での poster presentation。Dori も忙しい中、来て下さいました！

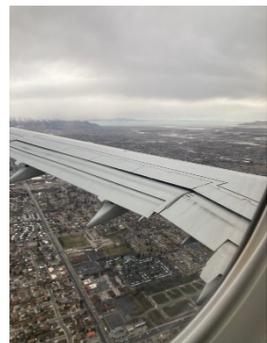


参考：14 年前の私（SOT2010，同じ会場にて）

ナノ粒子の毒性研究で御高名な Dr. Guenter Oberdoerster と記念写真！



真剣な表情で講演に聞き入りメモを取る岡村先生  
(SOT オフィシャルフォトより)



上空から見える、北米最大の塩湖 Great Salt Lake

## JSIT ImmunoTox Protocolのご案内

学会員の皆様は、ImmunoTox Letter にプロトコル集が掲載されていたことを覚えていらっしゃいますでしょうか？調べてみましたところ、2004年まで8回（20件）のプロトコルが掲載されていました。もう20年も前の話です。その間に実験手法も格段に進歩し、研究対象も大きく変わってきました。そこで学術編集委員会は「JSIT ImmunoTox Protocol」として新たにプロトコル集の掲載を開始することにしました。

20年前と比べて、現在はネットで簡単に情報を得ることができるようになっており、一般的なプロトコルについても簡単に入手することができると思われます。また20年前には細胞増殖やELISA法などが紹介されていましたが、今ではどこのラボでも行われる一般的な手法となっています（またはキット化されています）。「JSIT ImmunoTox Protocol」ではこのような一般的なプロトコルよりも、各研究室で独自に行われている実験や、免疫毒性研究に役立つような実験のプロトコルを紹介していきたいと考えています。

さてプロトコルですが、ImmunoTox Letter ではプロトコルのタイトルと概要のみを掲載いたします。プロトコルの詳細については、学会HPの「資料・情報」の会員専用エリアに格納いたします。学会員の皆様はユーザー名とパスワードを入力することで、プロトコルをご確認いただけます。

これを機会に、学会員の皆様からのプロトコルのご紹介をお待ちしております。また、年会で見かけた〇〇先生の実験手法を詳しく知りたい！とか、〇〇ラボで行われている実験の詳細な手順を教えてください！などのご要望についても、学術編集委員までメールにてお送りいただければ、可能な限り対応いたします。（編集後記の下に連絡先が記載されています）。

本号では3本のプロトコルを紹介いたします！！

学術編集委員会

### マウス初代ケラチノサイトの培養法

青木重樹 千葉大学大学院薬学研究院

#### <概要>

1-2日齢の若齢マウスの皮膚組織に対して、Dispase II を用いて真皮・皮下組織から表皮を剥離して表皮シートを作製する。次に、Accutase を用いて表皮シートからケラチノサイトを単離し、CnT-PR 培地中で培養する。そこから約4日後に実験に使用することが可能であり、このようにして得られた細胞は、90%以上がCytokeratin-14 陽性のケラチノサイトである。

#### #細胞調製法

---

マウス唾液腺細胞の調整およびフローサイトメトリーによる解析

黒石智誠 東北大学大学院歯学研究科

<概要>

唾液は口腔が正常に機能するために必須の外分泌液であり、全唾液の 90%以上は大唾液腺（耳下腺、顎下腺、舌下腺）から産生される。これまでに、経鼻ワクチンにより唾液中に特異抗体が誘導されることが報告されている。唾液は非侵襲的、且つ、経時的に採取が可能であり、その産生臓器である唾液腺には多量の免疫担当細胞が常在する。このため、唾液および唾液腺は次世代粘膜ワクチンの研究においても有用な研究対象であると考えられる。そこで本稿では、コラゲナーゼ処理によるマウス大唾液腺細胞単離液の調整法とフローサイトメトリーによる免疫細胞の解析例を示す。

#細胞調製法

マウス初代培養肺胞マクロファージの培養法

足立匠 兵庫医科大学医学部

<概要>

8週齢前後のマウスの肺組織を collagenase を用いてダイジェストし、肺胞マクロファージと肺線維芽細胞を単離後、共培養する。肺胞マクロファージは成長因子である GM-CSF を産生する肺胞線維芽細胞をフィーダーセルとし、増殖、分化する。培養 6 日後に肺線維芽細胞上にて微接着性を示す細胞をバイオシェーカーを用いて遊離させることで肺由来マクロファージを得られる。肺由来のマクロファージはおよそ 50%前後が CD11c+、SiglecF+の肺胞マクロファージであるため、CD11c+分画をソートすることでエンリッチし、肺胞マクロファージとして実験に用いる。

#細胞調製法

## 編集後記

日常生活もコロナ前に戻りつつあり、学会等のイベントもほぼ制約なく開催されるようになってきました。マスク効果か、コロナ禍の数年は鼻炎の症状がだいぶ改善されていましたが、今年は久々に辛い春を過ごしました。コロナ前の日常が戻ってくるのは大変喜ばしいことですが、パンデミックから得られた教訓を今一度精査する必要があるのではと感じています。

さて、第 31 回日本免疫毒性学会学術年会は黒田先生が年会長を務められ、兵庫医科大学で開催されます。また、今回は初の試みとして、大会期間に合わせてオンサイトでの技術セミナーの開催も予定しております。参加者は若手の方が中心となっており、是非実りある時間として頂くとともに、年会の方も大いに盛り上げて頂けることを期待しております！

(R. Y. 記)

**編集・発行: 日本免疫毒性学会**

編集発行責任者: 齋藤 嘉朗

編集委員会: 間 哲生、青木 重樹、

木戸 尊將、黒石 智誠、

黒田 悦史、坂入 鉄也、

角 大悟、西村 泰光、

室本 竜太、柳澤 利枝

原稿送付先: kuroetu@hyo-med.ac.jp