

第 16 回

日本エンドトキシン・自然免疫研究会 プログラム・抄録集

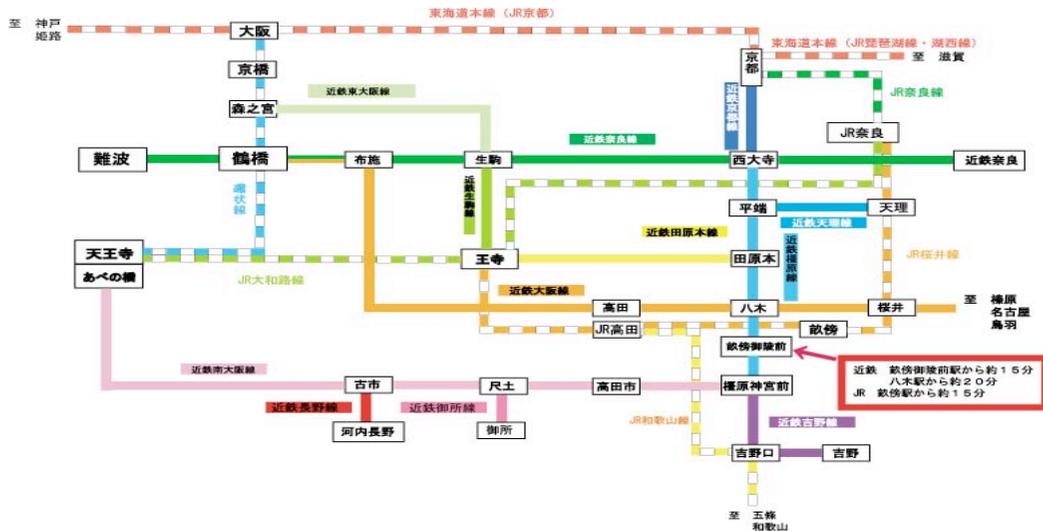
会期：2010 年 11 月 12 日 (金)・13 日 (土)

会場：かしはら万葉ホール

当番世話人 福井 博

〒634-8521 橿原市四条町 840
奈良県立医科大学 第 3 内科学教室
TEL：0744-22-3051 (内線 3415)
FAX：0744-24-7122

かしはら万葉ホールへのアクセス



電車での来館の場合

- 大阪・神戸方面 JR大阪駅（阪急・阪神 梅田駅）→JR 環状線→JR 鶴橋駅
近鉄 鶴橋駅→近鉄大阪線→八木駅
八木駅→近鉄橿原線→ 畝傍御陵前駅→徒歩 15分
- 南大阪方面 近鉄 阿倍野駅（JR 天王寺駅）→近鉄南大阪線→橿原神宮前駅
橿原神宮前駅→近鉄橿原線→畝傍御陵前駅→徒歩 15分
- 京都方面 近鉄 京都駅（JR 京都駅）→近鉄 京都・橿原線→畝傍御陵前駅
畝傍御陵前駅→徒歩 15分
- 奈良方面 近鉄 奈良駅→近鉄 奈良線→ 西大寺駅
西大寺駅→近鉄 橿原線→ 畝傍御陵前駅→徒歩 15分
JR 奈良駅→JR 桜井線→JR 畝傍駅→徒歩 15分
- 吉野方面 近鉄 吉野駅→近鉄 吉野線→橿原神宮前駅
橿原神宮前駅→近鉄 橿原線→畝傍御陵前駅→徒歩 15分

バスでの来館の場合

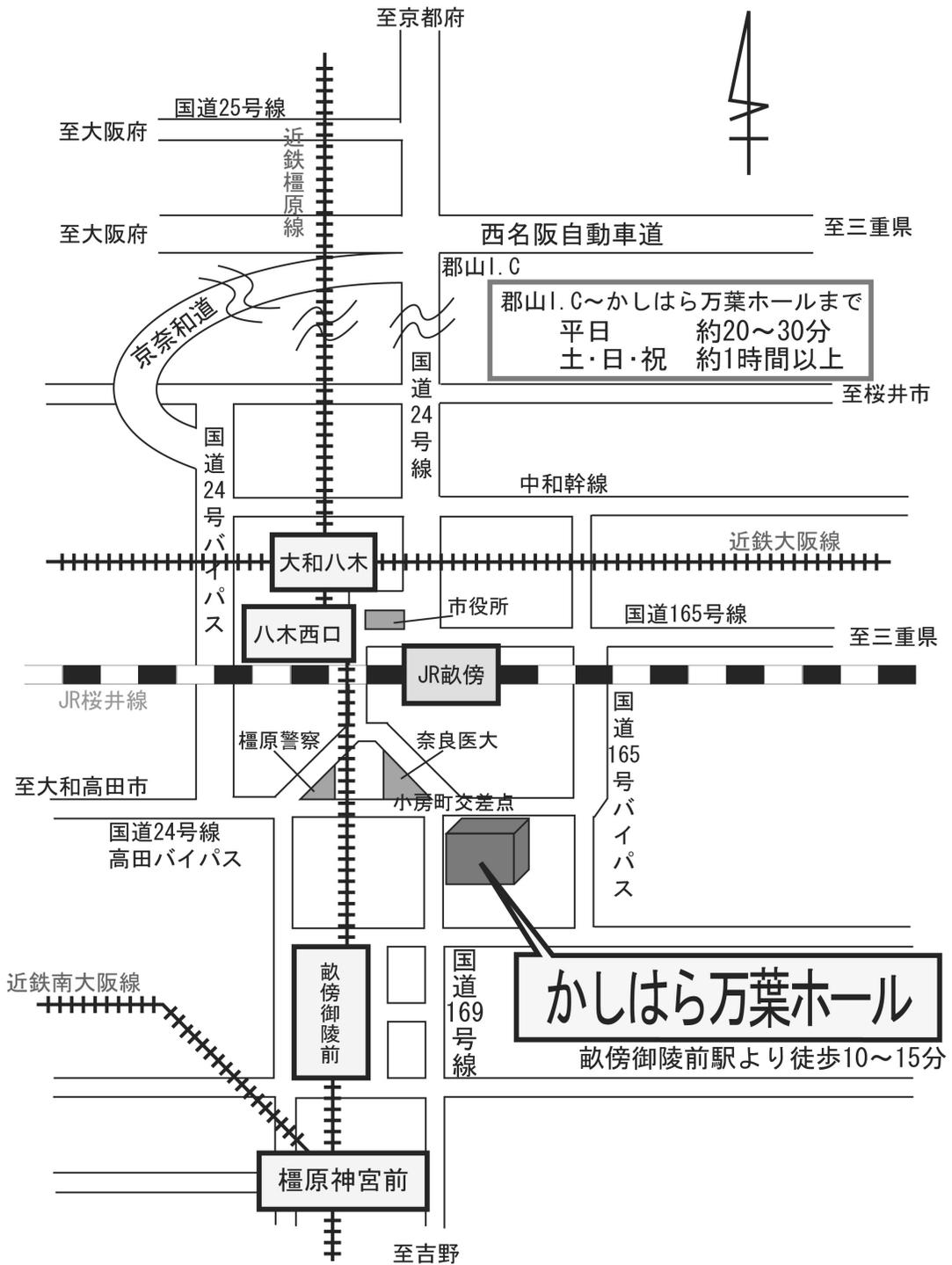
1. なら交通路線バス

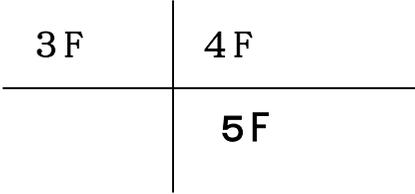
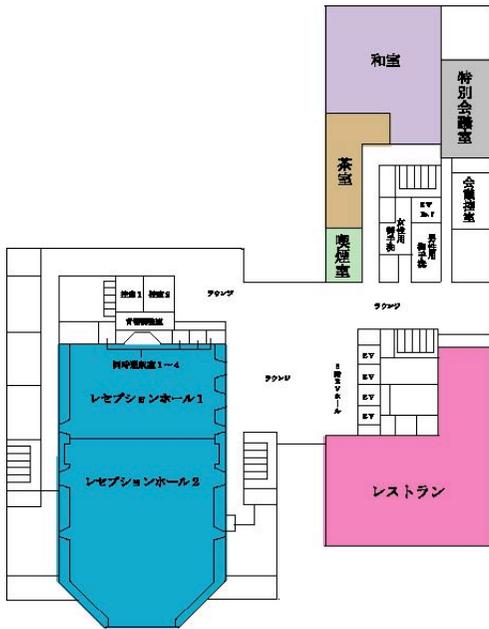
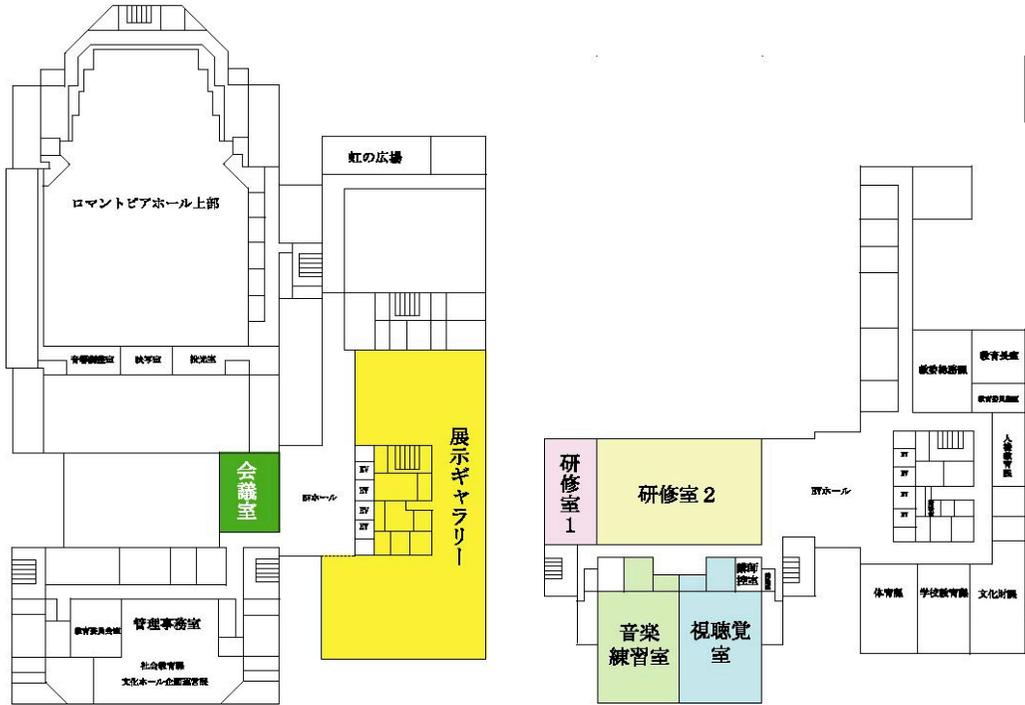
駅名	方面	降車地・料金	／所要時間
近鉄大和八木駅	菖蒲町四丁目	小房・170円	／約8分
	湯盛温泉杉の湯	小房・170円	／約8分
	下市町岩森	小房・170円	／約8分
橿原神宮前駅東口	八木駅	小房・170円	／約6分

2. 橿原市コミュニティバス

駅名	方面	降車地・料金	／所要時間
近鉄大和八木駅	橿原市昆虫館	かしはら万葉ホール・170円	／約15分

案内図





かしはら万葉ホール

〒634-0075 奈良県橿原市小房町 11 番 5 号
 TEL : 0744-29-1300 FAX:0744-24-9710

【参加者へのご案内】

1. 参加登録 会員ならびに未入会の方々へ

○参加費として1人 5000 円を会場受付でお支払いいただき参加証をお受け取りの上、各自で所属・氏名をご記入ください。期間中会場に入場する際には必ず参加証をお付けください。(学生・前期研修医・コメディカルは無料になります)

○演者・共同演者は本会会員に限ります。未入会の方は、あらかじめ日本エンドトキシン研究会事務局にて入会手続きをとるか、研究会当日に入会手続きをお願いします。

○年会費 (4000 円) 未納の方は会場受付で併せてお支払いいただきますようお願い申し上げます。

2. プログラム・講演抄録集

プログラム・講演抄録集は会場受付にて1冊1,000円で販売致します。研究会会員の方は、プログラム・講演抄録集を必ずご持参ください。お忘れになられた方への無料配布は致しませんのでご注意ください。

3. 関連行事

学術委員会

11月12日(金) 14:00~15:00 3F 会議室

常任世話人会

11月12日(金) 15:05~16:05 3F 会議室

世話人会

11月12日(金) 16:10~17:00 4F 視聴覚室

イブニングレクチャー

11月12日(金) 17:10~18:10 5F レセプションホール1

懇親会

11月12日(金) 18:20~20:00 5F レセプションホール2

機械展示

11月13日(金) 9:00~17:00 4F 研修室2

4. お問い合わせ先

第16回日本エンドトキシン・自然免疫研究会事務局

〒634-8521 橿原市四条町840

奈良県立医科大学 第3内科学教室

TEL : 0744-22-3051 (内線 3415) FAX : 0744-24-7122

【座長の皆様へ】

- 1) ご担当セッション開始時刻 15 分前には、次座長席にご着席下さい。
- 2) 各セッションの進行・形式・分担を御一任いたしますので、時間厳守でお願いいたします。

【演者の皆様へ】

- 1) セッション開始時刻 30 分前までに、PC 受付にて発表データの受付をお済ませ下さい。
- 2) 発表はすべて口演で行います。一般演題は発表 7 分・討論 3 分でお願いします。シンポジウムの発表は 15 分ですが、司会者の指示に従って発表、討論を行ってください。時間厳守でお願いします。
- 3) 口演はすべて PC で行っていただきます。通常の 35mm スライドでの発表は受付いたしませんので、ご了承ください。
- 4) プロジェクターは正面 1 台とします。
- 5) 演者は前演者口演開始までに次演者席についてください。
- 6) PC でのご発表について
 - 事務局で用意する PC の OS は Windows 7 で、プレゼンテーションソフトは Powerpoint 2003、2007 です。
 - 上記要領で作成されたデータであればデータ受付（USB メモリー、CD-R など）で受付いたします。
 - 各自、前セッションが始まる前までにデータ受付において動作が正常であることを確認してください。（なお開場の都合から一般演題 1 - 5 の演者の方はできる限り前日に受付をお願いいたします）
 - 使用フォントは特殊なものではなく、Powerpoint に設定されている標準フォントをご使用ください。
 - Powerpoint 以外のアプリケーションおよび動画入りでのご発表は、不具合が生じる可能性がありますので、各自の PC 持ち込みのみの受付となります。
 - PC 持ち込みの場合は、電源アダプター、モニター変換コネクタ（必要な方のみ）もご持参ください。PC からプロジェクター等につながるコネクタは「D-Sub15 ピン」メスです。マッキントッシュ PC などを使われる場合には D-Sub15 ピンへの変換コネクタを必ず持参して下さい。
 - 当日は演者自身で演台上の機材を操作していただきます。ファイル名は抄録掲載の「演題番号」と「氏名」を入力してください。
(例) 一般演題 1 - 肝臓太郎.ppt

研究会日程

11月12日(金)

17:10~18:10 イブニングレクチャー (5F レセプションホール1)

演者: Richard I Tapping, Ph.D.

Associate Professor, Department of Microbiology and College of Medicine

University of Illinois, USA

「The Emerging Picture of Toll-like Receptors in Health and Disease.」

司会: 福井 博

18:20~20:00 懇親会 (5F レセプションホール2)

11月13日(土) (5F レセプションホール1)

9:05~ 9:10 開会の辞 日本エンドトキシン研究会会長 嶋田 紘

9:10~10:00 一般演題 1~5 座長: 横地高志・松本昌美

10:05~12:00 シンポジウム1 座長: 三宅健介・四宮博人

「自然免疫系の解析と病態制御」

12:00~12:20 受賞講演 司会: 谷 徹

12:30~13:30 ランチョンセミナー 座長: 菊池英亮

演者: 遠藤重厚

「エンドトキシンを通して学んだこと」

共催: エーザイ株式会社

13:40~14:40 特別講演 司会: 福井 博

演者: Eugen Faist, MD, FACS, Professor of Surgery,

Department of Surgery, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany

「Endotoxin Activity Assay (EAA™) represents

an invaluable diagnostic marker in critical illness and care」

- 14:45～15:45 シンポジウム2 座長：谷 徹 ・福井 博
「血中エンドトキシン測定の展望」
- 15:50～16:40 一般演題 6～10 座長：筒井 ひろ子・小谷譲治
- 16:45～17:25 一般演題 11～14 座長：高田 春比古・高橋 徹
- 17:25～17:30 閉会の辞 当番世話人 福井 博

11月12日（金）5F レセプションホール1

イブニングレクチャー

17:10～

18:10

司会：福井 博（奈良県立医科大学第3内科）

The Emerging Picture of Toll-like Receptors in Health and Disease.

- Richard I. Tapping, Ph.D.
Associate Professor, Department of Microbiology and
College of Medicine,
School of Molecular and Cellular Biology,
University of Illinois, USA

11月13日(土) 5F レセプションホール1

一般演題 1～5

9:10～

10:00

座長：横地高志(愛知医科大学微生物・免疫学)

松本昌美(奈良県立五條病院)

一般演題 1

高脂肪高コレステロール摂取マウスにおける全身性シュワルツマン反応の増悪と血管内皮細胞傷害について

- 庄野 聡¹、木下 学²、中島裕幸²、羽生仁子²、中島正裕²、佐藤厚志²、小野 聡³、妻鳥 元太郎¹、関 修司²
防衛医科大学校防衛医学¹、防衛医科大学校免疫微生物学²、
防衛医科大学校防衛医学研究センター外傷研究部門³

一般演題 2

マウスにおける真菌 mannan (MAN) によるアナフィラキシー様急性ショック反応：lipopolysaccharide (LPS) との比較

- 船山 ひろみ¹、黄 玲^{2,3}、朝田芳信¹、横地高志⁴、高田 春比古³、遠藤康男²
鶴見大学歯学部小児歯科¹、東北大学大学院歯学研究科口腔分子制御学²、東北大学大学院歯学研究科口腔微生物学分野³、愛知医科大学微生物・免疫学⁴

一般演題 3

酸化肺サーファクタントリン脂質によるLPS惹起炎症応答抑制機構

- 西谷千明¹、有木 茂¹、高橋素子¹、栗村 雄一郎^{1,2}、斎藤充史^{1,3}、長谷川 喜弘^{1,3}、清水健之⁴、黒木由夫、札幌医科大学医学部医化学¹、札幌医科大学医学部泌尿器科²、札幌医科大学医学部第3内科³、高知大学医学部免疫学⁴

一般演題 4

LPSで誘導される微小血管内皮細胞のアポトーシスに対するヒト抗菌ペプチドLL-37の抑制作用

○鈴木 香¹、村上泰介¹、田村弘志²、長岡 功¹
順天堂大学医学部生化学生体防御学講座¹、生化学バイオビジネス株式会社²

一般演題 5

ローヤルゼリー中に含まれる中鎖脂肪酸 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid による LPS シグナル制御

○杉山剛志、高橋圭太、森 裕志
岐阜薬科大学生命薬学大講座微生物学研究室

シンポジウム 1 12:00

10:05～

「自然免疫系の解析と病態制御」

座長：三宅健介(東京大学医科学研究所 感染遺伝学分野)
四宮博人(愛媛大学大学院医学研究科 免疫学・感染病態学分野)

シンポ1-1

エンドトキシン血症下空腸粘膜 iNOS mRNA 発現の雌雄差における IL-18 および TLR4 の影響

○青山倫子^{1,2}、神前雅彦¹、井上岳人¹、前重伯壮¹、三好真琴¹、
上田敬博²、寺嶋 真理子²、宇佐美眞¹、小谷穰治²
神戸大学大学院保健学研究科¹、兵庫医科大学災害・救急医学²

シンポ1-2

IRAK-1 による TRAF6 の分解を介した TLR シグナリングの抑制的調節

○室井正志、棚元憲一
武蔵野大学薬学部環境衛生学

シンポ1-3

IKK β IS CRITICAL FOR INTERFERON- γ PRODUCTION IN NATURAL KILLER CELL AND ANTIVIRAL HOST DEFENSE.

○Tohru Miyake, Tomoharu Shimizu, Yoshihiro Endo, Satoshi Murata,

Hitoya Akabori, Hiroshi Yamamoto, Shizuo Akira, Tohru Tani
Department of Surgery, Shiga University of Medical Science

シンポ1-4

TLR4/TNF- α 系制御による急性肝不全の新規治療の試み

- 北澤利幸、辻本達寛、瓦谷英人、藤本正男、植村正人、福井 博
奈良県立医科大学第3内科

シンポ1-5

食食・活性酸素産生 Kupffer 細胞とサイトカイン産生 Kupffer 細胞は異なる -resident Kupffer 細胞と immigrant Kupffer 細胞-

- 木下 学¹、庄野 聡¹、中島弘幸¹、小野 聡²、関 修司¹
防衛医科大学校免疫微生物学¹、防衛医科大学校防衛医学研究センター外傷部門²

シンポ1-6

マクロファージの Fas シグナル系を介した細菌感染防御メカニズム

- 内山良介、筒井 ひろ子
兵庫医科大学医学部病原微生物学講座

平成 22 年度日本エンドトキシン研究会奨励賞受賞講演

12:00~12:20

司会：谷 徹（滋賀医科大学外科学講座）

「敗血症治療薬としてのエンドトキシンシグナル阻害分子に関する研究」

- 杉山圭一（基礎系受賞者）
国立医薬品食品衛生研究所

ランチョンセミナー

12:30～

13:30

座長：菊池英亮（奈良県立奈良病院）

「エンドトキシンを通して学んだこと」

演者：遠藤重正（岩手医科大学医学部救急医学講座、
岩手県高度救命救急センター）

共催：エーザイ株式会社

特別講演

13:40 ～ 14:40

司会：福井 博（奈良県立医科大学第3内科）

**「Endotoxin Activity Assay (EAA™) represents
an invaluable diagnostic marker in
critical illness and care」**

○ Eugen Faist (MD, FACS, Professor of Surgery,
Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany)

シンポジウム 2

14:45～

15:45

「血中エンドトキシン測定の展望」

座長：谷 徹（滋賀医科大学外科学講座）

福井 博（奈良県立医科大学第3内科）

シンポ2-1

敗血症患者における ESP 法による血中エンドトキシンの評価

- 清水智治¹、赤堀浩也¹、三宅 亨¹、村田 聡¹、山本 寛¹、小幡 徹²、遠藤善裕³、谷 徹¹
滋賀医科大学外科学講座¹、(財)微生物化学研究会特定研究推進グループ²、滋賀医科大学臨床看護学³

シンポ2-2

Endotoxin Activity Assay (EAA) の有用性と限界

- 安宅一晃¹、木西悠紀¹、梅井菜央¹、菅 健敬¹、大塚康義¹、宇城敦司¹、徳平夏子¹、嶋岡英輝¹、西 信一²
大阪市立総合医療センター集中治療部¹、兵庫医科大学集中治療医学科²

シンポ2-3

消化器内科領域における Endotoxin Activity Assay (EAA) の有用性についての検討

- 藤本正男、武山真也、北澤利幸、辻本達寛、瓦谷英人、植村正人、福井 博
奈良県立医科大学第3内科

一般演題 6 ~ 10

15:50 ~

16:40

座長：筒井 ひろ子 (兵庫医科大学病原微生物学)
小谷穰治 (兵庫医科大学救急救命センター)

一般演題 6

バルプロ酸は HMGB1 の能動放出を誘導して、エンドトキシンショックに対する感受性を高める

- 杉浦進介^{1,2}、石原裕一²、小松寿明¹、萩原 真¹、谷川順美¹、水谷大樹²、加藤佳子²、江口傑徳¹、野口俊英²、松下健二¹
独立行政法人国立長寿医療研究センター口腔疾患研究部¹、愛知学院大学歯学部歯周病学講座²

一般演題 7

肝不全における血漿エンドトキシン濃度と ADAMTS13 活性の動態

- 高谷広章¹、植村正人¹、藤本正男¹、松山友美¹、森岡千恵¹、石川昌利¹、
辻本達寛¹、瓦谷英人¹、松本雅則²、藤村吉博²、福井 博¹
奈良県立医科大学第3内科¹、奈良県立医科大学輸血部²

一般演題 8

アルコール性肝障害モデルにおけるサイトカイン産生調整薬の効果

- 瓦谷英人、辻本達寛、北澤利幸、藤本正男、植村正人、福井 博
奈良県立医科大学第3内科

一般演題 9

炎症性サイトカインによる腸管粘膜補体成分 C3 の発現コントロールについての
検討

- 今枝広丞¹、安藤 朗²、馬場重樹¹、稲富 理¹、辻川知之¹、
佐々木 雅也¹、齋藤康晴¹、藤山佳秀¹
滋賀医科大学消化器内科¹、滋賀医科大学大学院医学系研究科消化器免疫分野²

一般演題 10

低濃度一酸化炭素吸入はラット出血性ショックモデルによる急性肺傷害を軽減
する

- 川西 進¹、森松博史¹、清水裕子¹、松三昌樹²、高橋 徹³、森田 潔¹
岡山大学病院麻酔蘇生学講座¹、竜操整形外科病院麻酔科²、岡山県立
大学保健福祉学部³

一般演題 11～14

16:45～17:25

座長：高田 春比古（東北大学大学院歯学研究科
口腔微生物学分野）

高橋 徹（岡山県立大学保健福祉学部）

一般演題 11

脊椎動物祖先的生物ホヤはハイブリッド型の Toll 様受容体を持つ

- 佐々木 尚子、関口俊男、楠本正一、佐竹 炎

（財）サントリー生物有機科学研究所

一般演題 12

肺コレクチンによるレジオネラ菌の増殖抑制

- 斎藤充史^{1,2}、有木 茂¹、長谷川 喜弘^{1,2}、栗村 雄一郎¹、西谷千明¹、
高橋素子¹、高橋弘毅²、黒木由夫¹

札幌医科大学医学部医化学¹、札幌医科大学医学部第3内科²

一般演題 13

非定形抗酸菌感染に対する肺コレクチンの生体防御機構の解明

- 有木 茂¹、賀佐伸省²、小島 隆³、斎藤充史¹、西谷千明¹、高橋素子¹、
清水健之¹、栗村 雄一郎¹、澤田典均³、藤井暢弘⁴、黒木由夫¹

札幌医科大学医学部医化学¹、札幌医科大学医学部化学²、札幌医科大学医学部病
理学³、札幌医科大学医学部微生物学⁴

一般演題 14

黄色ブドウ球菌由来免疫活性化物質に関する研究

- 小野敬子、俵積田 一樹、隅田泰生、橋本雅仁

鹿児島大学大学院理工学研究科化学生命・化学工学

イブニングレクチャー

5F レセプションホール1

11月12日（金）17:10～18:10

演者：Richard I. Tapping 教授（イリノイ大学）

司会：福井 博（奈良県立医科大学第3内科）

RICHARD I. TAPPING

Department of Microbiology and College of Medicine

University of Illinois at Urbana/Champaign

B103 Chemical Life Sciences Laboratory, MC 110

601 S. Goodwin Ave., Urbana, IL 61801

Phone: (217) 244-7940 Fax: (217) 244-6697 Email: tapping@life.uiuc.edu

PROFESSIONAL APPOINTMENTS

- Aug 2009- **Associate Professor.** Dept of Microbiology, College of Medicine,
Present and Institute for Genomics Biology, University of Illinois, Urbana, IL.
- Aug 2002- **Assistant Professor.** Dept. of Microbiology and College of Medicine,
Present Member, Institute for Genomics Biology, University of Illinois, Urbana, IL.
- July 1999- **Senior Research Associate.** Dept. of Immunology, The Scripps
Research
Institute, La Jolla, CA.

EDUCATION AND TRAINING

- Jan. 1995- **Postdoctoral Fellow.** Dept. of Immunology, The Scripps Research
Institute, La July 1999
- Sept. 1988- **Ph.D.** Dept. of Biochemistry, McMaster University, Hamilton, ON,
Canada
- Jan. 1995 Mentor: Dr. John P. Capone
THESIS TITLE: Investigation of Regulation of Transfer RNA Gene
Expression in Mammalian Cells: Utilization of a Human Nonsense
Suppressor Transfer RNA.
- Sept. 1982- **B.S.** Honors Biochemistry, University of Waterloo, Waterloo, ON, Canada
- May 1987 Degree was part of a Co-operative Education Program which provided
research experience through 4 month work terms with the following:
Land Resources Research Center, Agriculture Canada, Ottawa, ON, Canada.
Mentor: Drs. R. Behki and S.U. Khan
Radiation Protection Bureau, Health and Welfare Canada, Ottawa, ON,
Canada. Mentor: Dr. M. Limson-Zamora,
Analytical Chemistry Dept., Bristol Myers Products Canada, Toronto, ON,
Canada. Mentor: Mr. Phil Gugliomi
Product Development Dept., Bristol Myers Products Canada, Toronto, ON,

Canada. Mentor: Ms. Bing Tolentino

OTHER RESEARCH EXPERIENCE

Jan. 1988- Technician- Dr. R. T. Irvin, Dept. of Botany and Microbiology, University of
July 1988 Toronto, Erindale Campus, Mississauga, ON, Canada.

May 1987- Technician- Biochemicals Group, Canada Packers Inc., Toronto, ON,
Canada.

UNIVERSITY POSITIONS

College of Medicine

Discipline Coordinator, M1 (First Year) Medical Immunology (125 students),
2003-Present

Discussion Leader, Monthly Microbiology Clinical Conferences, 2003-Present

Member, Executive Committee, 2007-2010

Member, Basic Science Subcommittee, 2003-2010

Member and Co-chair, Basic Science Subcommittee, 2010-present.

Member, Ad Hoc Curriculum Committee, 2008- present

Member, Student Progress and Promotions Committee 2003-2006

Ad Hoc Member, Interview Panel for Applicants to M.D./Ph.D. Program, COM,
2003-Present

School of Molecular and Cellular Biology

Course Director and Lecturer for MCB427-Infection and Immunity course Fall 2007

Member, Center for Molecular Biology Training Grant, 2003-2005, 2007- present

Member, Infection Biology Training Grant, 2010-present.

Member, Courses and Curriculum Committee, School of MCB. 2005-present

Member, Faculty Search Committee, Dept. of Cell and Structural Biology, 2003-2004

Member, Faculty Search Committee, Dept of Cell and Structural Biology, 2005-2006

Dept of Microbiology

Member, Undergraduate Research Committee, Dept. of Microbiology, 2003-2004

Chair or Member, Approx. 25 Graduate Student Advisory Committees, 2003-Present

Member, Graduate Student Admissions Committee, 2005-present

Member, Graduate Student Programs Committee, 2005-present

Campus

Member, Institute for Genomics Biology, Host-Microbe Systems, 2004-Present
Member, Institutional Biosafety Committee, 2005-2006
Member, Senate, University of Illinois at Urbana/Champaign, 2004-2006

PUBLICATIONS in 2009-2010

- 1) Guan, Y., Omueti-Ayoade, K., Mutha, S.K., Hergenrother, P.J. and **Tapping, R.I.** Identification of novel synthetic Toll-like receptor 2 agonists by high throughput screening. (2010) *J. Biol. Chem*, Epub May 26, 2010.
- 2) Guan, Y., Ranoa, D.R.E., Jiang, S., Li, X., Mutha, S.K., Baudry, J. and **Tapping, R.I.** Human Toll-like receptors 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. (2010) *J. Immunol.* 184 (9): 5094-5103. Cited as a journal highlight "In this Issue".
- 3) Sherry, C.L., Kim, S.S., Dilger, R.N., Bauer, L.L., Moon, M.L., **Tapping, R.I.**, Fahey, G.C. Jr., Tappenden, K.A., and Freund, G.G. Sickness behavior induced by endotoxin can be mitigated by the dietary soluble fiber, pectin, through upregulation of IL-4 and Th2 polarization. (2010) *Brain Behav. Immun.* 24 (4): 631-40.
- 4) Li, X., Jiang, S., and **Tapping R.I.** Toll-like receptor signaling in cell proliferation and survival. (2010) *Cytokine* Jan; 49(1): 1-9.
- 5) **Tapping, R.I.** Innate immune sensing and activation of cell surface Toll-like receptors. (2009) *Sem. Immunol.* Aug; 21 (4): 175-184.
- 6) Liang, S., Hosur, K.B., Lu, S., Nawar, H.F., Weber, B.R., **Tapping, R.I.**, Connell, T.D., and Hajishengallis, G. Mapping of a microbial protein domain involved in binding and activation of the TLR2/TLR1 heterodimer. (2009) *J. Immunol.* Mar 1; 182(5):2978-85.
- 7) Paul, C.J., Lyle, E.A., Beveridge, T.J., **Tapping, R.I.**, Kropinski, A.M., Vinogradov, E. Characterization of the cell surface glycolipid from *Spirochaeta aurantia*. (2009) *Glycoconj J.* Feb 12 [Epub ahead of print].
- 8) Kim, T.K., Thomas, S.M., Ho, M., Sharma S., Reich, C., Frank, J., Yeater, K.M., **Tapping R.I.**, Blanke, S.R., Slauch, J.M., Gaskins, R., Weissbaum, J.S., Olsen, G.J., Hoyer, L.L., and Wilson, B.A. Heterogeneity of vaginal bacterial communities within individuals. (2009) *J. Clin. Microbiol.* Apr; 47 (4): 1181-9.
- 9) Yun, T.H., Cott, J.E., **Tapping, R.I.**, Slauch, J.M., Morrissey, J.H. Proteolytic inactivation of tissue factor pathway inhibitor by bacterial omptins. (2009) *Blood* 113 (5): 1139-48.

- 10) Turner J.K, Xu, J.L., and **Tapping R.I.** Substrains of 129 mice are resistant to *Yersinia pestis* KIM5: Implications for IL-10 deficient mice. (2009) *Infect Immun* Jan; 77(1): 367-73.

SEMINARS AND INVITED LECTURES in 2009-2010

Seminar Speaker, University of Illinois College of Medicine, Rockford. What we know and don't know about human Toll-like receptor 10. Rockford, Illinois. November 1, 2010.

Speaker, Annual Meeting of The Society for Leukocyte Biology & The International Endotoxin and Innate Immunity Society. Human TLR10: Innate recognition and signaling function. Vancouver, Canada. October 7-9, 2010.

Session Chair, Host-Microbe Interactions. Annual Meeting of The Society for Leukocyte Biology & The International Endotoxin and Innate Immunity Society. October 7-9, 2010.

Seminar Speaker, Boston University School of Medicine. April 2010. Human TLR10 is a *bona fide* TLR2 family member with a unique innate immune function.

Seminar Speaker, University of Pennsylvania School of Medicine. November 2009. Unraveling the complexities of Toll-like receptor 2 recognition and signaling.

Seminar Speaker, University of Louisville School of Medicine. October 2009. Unraveling the complexities of Toll-like receptor 2 recognition and signaling.

Speaker, Gordon Research Conference: Periodontal Diseases. Cellular sensing of microbes by members of the TLR2 subfamily. New London, NH. August 2009.

Keystone Symposia: Pattern Recognition Molecules and Immune Sensors of Pathogens. Banff, Canada. March 2009. Human Toll-like receptors 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling.

Operator/Repressor System. Keystone Symposium: Fundamental Mechanisms of Transcription, Copper Mountain, CO. *J. Cell Biochem. Suppl.* 16E, 150.

PROFESSIONAL AFFILIATIONS

Member-American Association for the Advancement of Science

Member-American Association of Immunologists

Member-Society for Leukocyte Biology

Member-International Endotoxin and Innate Immunity Society (IEIIS)

Organizer-10th Biennial Meeting of IEIIS, Edinburgh Scotland, July 2008.

Scientific Officer (Immunology) IEIIS (2006-present)

Editor-IEIIS Newsletter (2008-present)

Webmaster IEIIS (2008-present)

Member, Association of Medical Schools Microbiology and Immunology Chairs (2010-present)

Ad Hoc Reviewer, *Nature*, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *Blood*, *Infection and Immunity*, *Journal of Biological Chemistry*, *Journal of Immunology*, *PLoS One*, *PLoS Pathogens*, *Cytokine*, *Journal of Immunological Methods*, *American Journal of Physiology*, *FASEB J*.

Ad Hoc Reviewer, British Biochemical Research Council (2004)

Ad Hoc Reviewer, Pearson Benjamin Cummings Publishers (2004)

Ad Hoc Reviewer, Elsevier Publishers (2006)

Ad Hoc Reviewer, ASM press (2007)

Ad Hoc Reviewer, Wellcome Trust, UK (2009)

NIH Study Sections

Member, NIH-NIAID Immunology Fellowship ZRG1 F07 (Feb 2005-Feb 2007)

Ad Hoc, NIH-NIAID Innate Immunity and Inflammation ZRG1-III-F01 (Feb 2006)

Ad Hoc, NIH-NIAID Hypersensitivity, Autoimmune, Immune Related Diseases SRG1 HAI-G (June 2007)

Ad Hoc, AHA Basic Cell and Molecular Biology Study Section (Oct 2007)

Ad Hoc, NIH-NIAID Pathogen Induced Chronic Inflammation ZAI-MP-I-M2 (Jan 2008, May 2009)

Ad Hoc, NIH-NIAID Host Interactions with Bacterial Pathogens ZRG1 HIBP-B (Feb 2008)

Ad Hoc, NIH-NIAID Hypersensitivity, Autoimmune, Immune Related Diseases SRG1 HAI-G 09 (Feb 2008)

Ad Hoc, NIH-NIAID Immune Mechanisms of Virus Control ZAI1-SRC (Jan 2009)

Ad Hoc, NIH-NIAID Cellular and Molecular Immunology 2 Study Section (June 2010)

Ad Hoc, NIH-NIAID Pathogenic Mechanisms in UTI (July 2010)

The Emerging Picture of Toll-like Receptors in Health and Disease.

Richard I. Tapping.

Dept. of Microbiology and College of Medicine, University of Illinois, Urbana, IL, USA.

The ability of host cells to sense and respond to infection is dependent upon the organized actions of the molecules and cells which constitute the innate immune system. This system enables the host to mount an immediate response to infection that ultimately kills the infectious agent, clears infected tissues and initiates repair processes. Over the past decade a family of transmembrane receptors, known as Toll-like receptors (TLRs), have emerged as critical essential elements of innate immune defense in higher vertebrates. Humans possess 10 TLR family members subsets of which are expressed in epithelial cells, endothelial cells as well as leukocyte subtypes found in tissue and blood. TLRs sense conserved structural components of microbes which include cell wall or membrane components of bacteria and fungi as well as modified nucleic acids of certain bacteria and viruses. Upon direct binding of a cognate microbial agonist, TLR signaling activates the expression and cellular release of cytokines, chemokines and other mediators that facilitate local inflammation and recruit immune cells to the site of infection. In addition to providing immediate protection for the host, this TLR-induced response drives the activation of T and B lymphocytes which ultimately provide long term adaptive immunity. In addition to microbial components, TLRs also sense products of tissue damage and this activity is directly associated with a variety of inflammatory disorders ranging from sepsis, atherosclerosis, asthma, and certain autoimmune diseases.

This lecture will highlight the role of TLRs in both innate immune defense and in the promotion of adaptive immune responses. The deleterious activities of TLRs in chronic inflammation as well as current clinical progress in targeting TLRs as therapeutic targets will also be examined. Finally, this lecture will highlight research in our lab which is focused on understanding the evolution and biologic function of the TLR2 subfamily. TLR2 is unique among mammalian TLRs in that it requires heterodimeric association with other related TLR family members, namely TLR1 or TLR6, in order to function. The TLR2 subfamily mediates responses to a wide variety of microbial and fungal components as well as self products of tissue damage and inflammation. Our lab has recently found that TLR10, the only remaining orphan TLR in humans, is also a heterodimeric coreceptor for TLR2. This receptor is highly expressed in B cells and preliminary data indicate a function which is unique from that of other TLRs. Preliminary results from cell lines as well as a recently developed transgenic

TLR10 mouse suggest a global immunosuppressive role for TLR10 as well as a unique role in controlling B cell homeostasis.

特別講演

5F レセプションホール 1

11月13日(土) 13:40 ~ 14:40

演者：Eugen Faist 教授 (ルートヴィヒ・マキシミリアン大学)

司会：福井 博 (奈良県立医科大学第3内科)

CURRICULUM VITAE

NAME: Dr. Faist Eugen

DATE OF BIRTH: September 14th, 1949

LOCATION OF BIRTH: Krumbach/Bavaria, Germany

PARENTS: Eugen Faist (dental surgeon) and Gerda Faist, nee Roeder

EDUCATION: Elementary School and High School (Gymnasium) 1956 -1969

AFS scholarship in Franklin, Indiana, USA 1967 -1968

Graduation High School - Abitur 1969

UNIVERSITY: School of Medicine -Ludwig-Maximilians-University (LMU)

Munich, Germany 1969 -1975

State Examination: July 1975

INTERNSHIP: Sept. 1975 -Sept. 1976

Department of Surgery and Dept. of Medicine

School of Medicine -LMU Munich

ACKNOWLEDGEMENT AS

A DOCTOR OF MEDICINE:

September 1976

TITLE OF DOCTOR THESIS: (1975) "The Electric Pacemaker of the Heart: Functional Patterns, Endurance of Function and Complications: Clinical Results" (LMU Munich)

RESIDENCY: Oct. 1976 -Sept. 1978 Surgical resident at the Department of Surgery of the Central Military Hospital Koblenz (Director: Prof.Dr. W. Hartel)

Since Oct. 1, 1978 resident at the Department of Surgery, School of Medicine, LMU Munich Klinikum Grosshadern (Director: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. K.W. Jauch)

CURRENT POSITION: - Attending Surgeon

- Director Acute Care Surgery

- Director Clinical Study Center

- Director Laboratory "Acute Inflammation and Sepsis"

Department of Surgery, School of Medicine, LMU Munich

Klinikum Grosshadern (Director: Prof. Dr. Dr. med. h.c. mult. K.W. Jauch), Marchioninstr. 15, 81377 Munich, Germany

BOARD CERTIFICATION

AS A SURGEON:

June 1983

INAUGURAL DISSERTATION

COMPLETED AND DEFENDED:

Title: "The Influence of Major Blunt Trauma on Parameters of

Cell-Mediated Immune Responses"

Associated title: Doctor of Medicine (habil), November 1988

APPOINTMENT AS UNIVERSITY

LECTURER -ASSOCIATE

PROFESSOR OF SURGERY

(PRIVATDOZENT):

February 1989

ATTENDING SURGEON: Ludwig-Maximilian University of Munich, Klinikum

Grosshadern

since May 1991

ACKNOWLEDGEMENT OF

SURGICAL SUBSPECIALTY:

Thoracic Surgery

September 29th, 1994

APPOINTMENT PROFESSOR OF

SURGERY (TENURE):

March 1st, 1995

OVERALL INVESTIGATIVE WORK: See list of publications

INVESTIGATIVE WORK ABROAD AND SPECIAL FELLOWSHIPS:

Clinical and research fellowship: July 1983 -July 1984:

Yale University, School of Medicine, Dept. of Surgery

(Chairman: Prof. A.E. Baue) and Dept. of Medicine, Section of Clinical Immunology (Prof. G. Dwyer). Scholarship of the German Research Society (Deutsche Forschungsgemeinschaft DFG).

Investigative complex:Experimental work about alterations of cell mediated immunity following burn and mechanical trauma.

LABORATORY FOR SURGICAL IMMUNOLOGY RESEARCH GRANT:

Major support: Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), starting March 1, 1985

Title of the project: **Trauma induced alterations of cell mediated immunity.** > until today

RECENT INVESTIGATIVE WORK

MAJOR COMPLEXES:

1. Trauma induced modifications of immune responses

-individual cell analysis of T-lymphocyte, B-lymphocyte-and monocyte-behaviour. Major focus: Analysis of cytokine patterns under traumatic stress.

Molecular biology analysis of the regulatory levels of pro-and anti-inflammatory cytokines in comparison to protein synthesis of corresponding mediators.

2. Characterization of positive and negative regulatory mechanisms of monocyte/T-cell interactions.

3. Inflammatory properties of thrombolytic molecules (ATIII, APC).
4. Clinical immunomodulatory studies in critically ill surgical patients.
5. Immunotherapy of sepsis.
6. Endotoxin determinations (EAA) under conditions of major trauma, liver transplantation and sepsis syndrome.
7. Interactions of pro-and anti-inflammatory cytokines of TH1 and TH2 type in surgical patients.
8. DAMPs and PAMPs molecules as biomarkers in trauma and sepsis.
9. Immunomonitoring in Critical Care.

MEMBERSHIPS OF SCIENTIFIC SOCIETIES:

- a) 1976 Deutsche Gesellschaft für Chirurgie (German Surgical Association)
- b) 1986 Bayerische Chirurgenvereinigung (Bavarian Surgical Association)
- c) 1986 American Association for the Surgery of Trauma (AAST)
- d) 1991 Panamerican Trauma Association
- e) 1989 Surgical Infection Society (SIS)
- f) 1991 Surgical Infection Society Europe (SIS-E)
- g) 1988 Gesellschaft für Immunologie (Association for Immunology)
- h) 1994 Shock Society
- i) 1996 American College of Surgeons

HONORARY MEMBERSHIP: Society of University Surgeons (SUS)

OFFICE IN SCIENTIFIC SOCIETIES: 2002 President SIS-Europe Since 2006 Scientific Director German Antisepsis Foundation

ORGANISATION OF SCIENTIFIC MEETINGS: From March 3rd-5th, **1988** the "International Congress on the Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis -Mechanisms and Therapeutic Approaches" has been inaugurated, organized and carried out (800 participants).

The 2nd International Congress on the Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis -Mechanisms and Therapeutic Approaches has been organized from March 6th- 9th, **1991** (1400 participants).

The 3rd International Congress on the Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis has been organized from March 2nd-5th, **1994** and was attended by 1850 participants.

The 4th International Congress on the Immune Consequences of Trauma, Shock and Sepsis has been organized from March 4th-8th, **1997** and was attended by 2000 participants.

The 5th World Congress on Trauma, Shock, Inflammation and Sepsis -Pathophysiology, Immune Consequences and Therapy has been organized from February 29th-March 4th, **2000** and was attended by 2000 participants.

The 6th World Congress on Trauma, Shock, Inflammation and Sepsis – Pathophysiology, Immune Consequences and Therapy has been organized from March 2nd- 6th, **2004** and was attended by 1850 participants.

The 7th World Congress on Trauma, Shock, Inflammation and Sepsis – Interdisciplinary Summit on Inflammation has been organized from March 13th- 17th, **2007** and was attended by 1950 participants.

The 8th World Congress on Trauma, Shock, Inflammation and Sepsis – TSIS 2010 and 2nd Interdisciplinary Summit on Inflammation in conjunction with the 23rd SIS-Europe Congress on Surgical Infections has been organized from March 9th–13th, **2010** and was attended by 1850 participants.

EDITORIAL BOARD MEMBERSHIPS:

Digestive Surgery (January 1st, 1995)

Critical Care (1997)

American Journal of Surgery (1997)

Surgical Infections (1998)

Journal of Trauma (1998)

Critical Care and Shock (1998)

Innate Immunity (2007)

Inflammation Research (2008)

SHOCK (2010)

SCIENTIFIC AWARDS: J. N. v. Nussbaum Price for Surgical Research - Bavaria

Surgical Association -**1988** -Title of the investigative work: "The influence of major blunt trauma on parameters of cell-mediated immune responses".

Price for the Advancement of Intensive Care Medicine 1994 - German Surgical Society -Title of the investigative work: "Dysfunctions of the immunoregulatory cytokine cascade and corresponding therapeutic interventional modalities in surgical intensive care patients".

Endotoxin Activity Assay (EAA™) represents an invaluable diagnostic marker in critical illness and care

Eugen Faist, Siegfried Zedler,

Department of Surgery, Ludwig Maximilian University Munich, Germany

Endoxemia has been detected in a variety of disorders including sepsis, liver disease, vascular disease as well also in patients that have sustained major burns and mechanical trauma or have undergone cardiopulmonary bypass. Endotoxin measurement in biological fluids is notoriously difficult, and thus the inability to detect endotoxemia reliably in the clinical setting has impeded assessment of its precise role in inflammatory responses in critically ill patients.

The so far most widely used method – the chromogenic modification of the limulus amoebocyte assay (LAL), in our conviction, is not sufficiently reliable and relatively nonspecific as it can be triggered e.g. by fungal products. With the development of the ENDOTOXIN ACTIVITY ASSAY (EAA™), around a decade ago, an alternative technique for measuring endotoxin in whole blood has become available. It is based on the detection of enhanced respiratory burst activity in neutrophils following their priming by complexes of endotoxin and a specific anti-endotoxin antibody. Thus, a new avenue of laboratory diagnostics in terms of reliable and rapid detection of endotoxemia has become accessible.

The principle of EAA™ is as follows: Endotoxin in EDTA whole-blood reacts with a specific anti-endotoxin antibody. This immune complex is opsonised by complement proteins. The LPS-IGM complex is phagocytized from neutrophils that have been primed with zymosan. The neutrophil releases oxyradicals that are captured by a reagent lumiphor. The light units are then counted in a chemoluminometer and the endotoxin blood levels are graded to either 'low' (< 0.4), 'middle' (0.4 – 0.6) or 'high' (>0.6) relative light unites (RLU). A gramnegative infection is considered for values higher than 0.40 RLU. We have been scrutinizing the administration of EAA™ as a biomarker in patients with intraabdominal infection undergoing surgical source control for perioperative screening of the clinical course for the following objectives: Scrutiny of the prognostic relevance of EAA™ in peritonitis, monitoring of therapeutic success and to investigate the features of EAA™ as a diagnostic tool for a more differentiated documentation of the role of endogenous (tissue damage) versus exogenous (gram-negative pathogens) triggers of the systemic inflammatory response. In the past 36 months in more than 60 patients with secondary peritonitis the sensitivity of EAA™ assessment in terms of clinical decision making was investigated - we saw a sensitivity of EAA™ of 100 % - in all 3 ranges of endotoxin blood stream concentrations. EAA™ assessment also proved most helpful in terms of determining the success of initial source control, while it is also allowing us to monitor exactly the time

intervals for endotoxin load reduction following primary and repetitive surgical intervention. A close correlation between endotoxin levels and the degree of systemic inflammation (IL-6 levels) was found before initial peritoneal source control was obtained; once the inflammatory focus has been cleared, we observed a dissociation between endotoxin blood levels and the degree of whole body inflammation.

In a further series of studies, patients suffering from substantial blunt trauma (30 ISS points average) and severe burn trauma (average of 34 % of TB SA – grade II-III) have been monitored. On day 3 post-trauma nearly all burned patients showed massive endotoxemia which was persisting during the further observation period, in contrast blunt trauma patients displayed most differential infection patterns with only two-thirds of patients being endotoxin positive on day 3. Comparing the concentration of LPS-binding protein (LBP) during the posttraumatic acute phase we saw a steady increase of LBP concentrations during the entire observation period of 10 days. LBP values are also correlated in burns significantly with endotoxin activity.

In our conviction the measurement of endotoxin via EAA™ represents a most reliable method to assess the degree of non-sterile inflammation and offers an invaluable biomarker for the immunomonitoring panel in critical care surgery in trauma, infection and transplantation. Modern immunomonitoring in critically ill surgical patients should always involve a panel of markers that give adequate information on sterile versus non-sterile inflammation, immunocompetence, immunoactivation and tissue destruction.

シンポジウム 1
「自然免疫系の解析と病態制御」
11月13日（土） 10:05～12:00

座長：三宅健介（東京大学医科学研究所 感染遺伝学
分野）

四宮博人（愛媛大学大学院医学研究科 免疫学・
感染病態学分野）

エンドトキシン血症下空腸粘膜 iNOSmRNA 発現の雌雄差における IL-18 および TLR4 の影響

○青山倫子^{1,2}、神前雅彦¹、井上岳人¹、前重伯壮¹、三好真琴¹、
上田敬博²、寺嶋 真理子²、宇佐美眞¹、小谷穰治²
神戸大学大学院保健学研究科¹、兵庫医科大学災害・救急医学²

<背景>Interleikin-18(IL-18)は敗血症患者において血中濃度が増加することが知られている。我々は、IL-18 がマウス急性膀胱炎モデルにおいて膀胱の inducible NO synthase (iNOS) 発現を増加させることを報告している。本研究では、マウスエンドトキシン血症下の空腸粘膜 iNOSmRNA 発現の雌雄差と、IL-18 および TLR4 がそれらに与える影響について検討した。<方法>雌雄の C57BL/6J(Wild type:WT)、B6.129P2-IL-18^{tm1Aki}/J(IL-18 knock out)、C3H/HeN (normal) および C3H/HeJ(TLR4 mutant)マウスを用い、それぞれ40 mg/kg の lipopolysaccharide (LPS) またはPBS を腹腔内に投与し、投与後18時間で犠死せしめた。腸管を採取し、空腸粘膜の iNOS、IL-18、TLR4 の mRNA をリアルタイムPCRにより定量した。WT雄PBS群をコントロールとして用い、各群の発現量はコントロール比として評価した。統計学的検討には多重比較検定を用いた。<結果>C57BL/6の検討では、WTにおいて iNOSmRNA は雄LPS群 11.54 ± 2.95 、雌LPS群 4.09 ± 0.66 ($p < 0.05$)、と雄で有意に高値を示した。このとき、IL-18KOでの iNOSmRNA は雄LPS群 2.52 ± 0.82 、雌LPS群 6.37 ± 1.79 で、雄においてWTに比べ有意に減少した ($p < 0.01$)。このとき IL-18mRNA は iNOSmRNA と同様に雄で有意に高く ($p < 0.05$)、TLR4mRNA は逆に雌で有意に高値を示した ($p < 0.01$)。次に、C3Hの検討では、normalにおいて iNOSmRNA は雄LPS群 41.81 ± 7.40 、雌LPS群 141.72 ± 43.89 と雌で有意に高値を示した ($p < 0.05$)。TLR4mutant では雄LPS群 92.93 ± 51.92 、雌LPS群 28.53 ± 14.23 と、雌においてnormalに比べ有意に減少した ($p < 0.01$)。このとき IL-18mRNA は iNOSmRNA と同様に雌で有意に高く ($p < 0.05$)、TLR4mRNA には雌雄差は見られなかった。<考察> B57BL/6マウス、C3Hマウスともに空腸の IL-18mRNA の増加と iNOSmRNA の増加が一致することから、空腸においても IL-18 が iNOS の発現を増加させる可能性が示唆された。また、空腸 iNOSmRNA 発現は雄では IL-18 が、雌は TLR4 が中心となって調節する可能性が示唆された。

IRAK-1 による TRAF6 の分解を介した TLR シグナリングの抑制的調節

○室井正志、棚元憲一

武蔵野大学薬学部環境衛生学

【目的】IRAK-1 と TRAF6 は共に Toll 様受容体 (TLR) のシグナル伝達に重要な役割を果たしている。我々はマクロファージ細胞を種々の TLR リガンドで持続的に刺激することにより TRAF6 が分解を受けることを見出し、その機構に IRAK-1 との相互作用が関係することを明らかにしたので報告する。

【方法】マウスマクロファージ様細胞株 J774.1 およびヒト胎児腎由来細胞株 HEK293 を用い、各種蛋白をウェスタンブロット法により検出した。

【結果】J774.1 細胞を各種 TLR リガンドで刺激すると I κ B α の分解より 3-8 時間遅れて TRAF6 蛋白も減少することが観察された。この減少は MG-132、lactacystin、ALLN で抑制されたことから proteasome の関与が示唆された。TLR シグナリングに関与する MyD88、IRAK-4、IRAK-1、TRAF6、IKK β のうち IRAK-1 の過剰発現でのみ、内因性の TRAF6、一過性または恒常的に発現させた TRAF6 蛋白のレベルが減少した。この際、TRAF6 の N 末または C 末に付加したエピトープタグを検出するいずれの抗体でも TRAF6 の切断産物は検出されず、この TRAF6 の減少も上記の proteasome 阻害薬で抑制されたことから、proteasome により TRAF6 が分解を受けていることが示唆された。TRAF6 と結合しない IRAK-1 変位体 (E544、587、706A) の過剰発現では TRAF6 の減少は見られず、TRAF6 の N 末 (アミノ酸 2-288) を欠失する変異体、ubiquitin 連結酵素活性のない TRAF6 変異体 (C70A) のレベルは IRAK-1 の過剰発現により影響を受けなかったことから、TRAF6 と IRAK-1 の相互作用により IRAK-1 が ubiquitin 化されることが TRAF6 の減少に関与することが考えられた。IRAK-1 の過剰発現により TRAF6 の ubiquitin 化はほとんど見られず、TRAF6 と結合している IRAK-1 には Lys⁴⁸ 連結ポリユビキチン鎖と Lys⁶³ 連結ポリユビキチン鎖のどちらも付加されていた。TRAF6 の減少は Lys⁴⁸ 連結ポリユビキチン鎖と競合して Lys⁶³ 連結ポリユビキチン鎖を IRAK-1 に付加することが知られている Pellino 3 の共発現により抑制されたことから、TRAF6 の減少には IRAK-1 の Lys⁴⁸ 連結ポリユビキチン化が関与することが明らかになった。

【結論】以上より、IRAK-1 は TRAF6 と結合し、Lys⁴⁸ 連結ポリユビキチン化を受け proteasome 依存性に分解を受けると共に、結合している TRAF6 も同時に proteasome により分解されることを明らかにし、IRAK-1 が TLR シグナルにおいて抑制的な調節機構を有することを示唆した。

IKB ζ IS CRITICAL FOR INTERFERON-GAMMA PRODUCTION IN NATURAL KILLER CELL AND ANTIVIRAL HOST DEFENSE.

○Tohru Miyake, Tomoharu Shimizu, Yoshihiro Endo, Satoshi Murata,
Hitoya Akabori, Hiroshi Yamamoto, Shizuo Akira, Tohru Tani
Department of Surgery Shiga University of Medical Science

IkB ζ is an ankyrin repeat-containing nuclear protein homologous to the IkB family member Bcl-3. The expression of IkB ζ is rapidly induced by stimulation with Toll-like receptor ligands. Analysis of IkB ζ -deficient ($\zeta^{-/-}$) mice revealed that IkB ζ is critical for controlling the expression of a set of TLR-inducible genes such as IL-6 and IL-12 in macrophages. Initially induced IkB ζ interacts with NF κ B p50 subunit and facilitate the gene expression of genes including *Il6*. However, the importance of IkB ζ to viral infection and the role of IkB ζ in cell types other than macrophages are not understood yet. To examine the involvement of IkB ζ in the resistance to viral infection in vivo, IkB $\zeta^{-/-}$ and littermate mice were infected with mouse cytomegalovirus (MCMV). Interferon- γ productions in the sera in response to viral infection were impaired and the increased mortality was observed in IkB $\zeta^{-/-}$ mice. Since natural killer (NK) cells are known to be critical for controlling MCMV infection in mice, we analyzed the function of IkB ζ in NK cells. Interestingly, Interferon- γ productions in vitro to IL-12 and IL-18 stimulations were severely impaired in NK cells from IkB $\zeta^{-/-}$ mice. IkB ζ expressions reached maximum at 1h and were gradually decreased by 24 h after IL-12 and IL-18 stimulations. On the other hand, Interferon- γ expressions were up-regulated at later time point compared with IkB ζ . Activation of cytotoxicity was impaired in IkB $\zeta^{-/-}$ mice as well, indicating that IkB ζ is critical for intrinsic activation of NK cells. We are currently analyzing the mechanism how IkB ζ controls NK cell activation.

TLR4/TNF- α 系制御による急性肝不全の新規治療の試み

○北澤利幸、辻本達寛、瓦谷英人、藤本正男、植村正人、福井 博
奈良県立医科大学第3内科

【目的】急性肝不全ではマクロファージをはじめとする各種細胞の表面に存在する Toll-like receptor (TLR) 4 を介する炎症性サイトカインの過剰産生が肝細胞障害の増悪につながる可能性がある。今回われわれは、重症敗血症の治療薬として開発が試みられている TLR4 antagonist である E5564 を急性肝不全ラットに投与し、肝障害抑制効果および救命効果に関して検討した。

【方法】体重 200g の Wistar 系雄性ラットにガラクトサミン (GalN) を腹腔内投与して急性肝不全ラットを作製し、GalN 投与直後に E5564 を静脈内投与した。24 時間後に採血して血清 T. Bil、ALT、TNF- α 値を測定した。次に肝臓を採取し、RT-PCR 法で肝内 TNF- α mRNA の発現レベルを E5564 非投与群と比較検討した。さらに、致死的肝不全モデルとして知られる GalN+LPS 投与急性肝不全ラットの 24 時間生存率を E5564 非投与群、投与群間で比較検討した。

【成績】1) GalN 投与ラットは肝内 TNF- α mRNA の発現増強とともに急性肝不全に陥ったが、E5564 投与により血清 T. Bil、ALT、TNF- α 値の上昇および肝内 TNF- α mRNA 発現は有意に抑制された。2) GalN+LPS 投与急性肝不全ラットの 24 時間生存率は 8.3%であったが、E5564 投与により 43%にまで改善した。

【結論】急性肝不全ラットに TLR4 antagonist E5564 を投与することにより肝障害の軽減と生存率の改善をみた。TLR4 antagonist は TNF- α を抑制することにより、急性肝不全の進展を予防する新規治療薬となり得ることが示唆された。

食食・活性酸素産生 Kupffer 細胞とサイトカイン産生 Kupffer 細胞は異なる
-resident Kupffer 細胞と immigrant Kupffer 細胞-

○木下 学¹、庄野 聡¹、中島弘幸¹、小野 聡²、関 修司¹
防衛医科大学校免疫微生物学¹、防衛医科大学校防衛医学研究センター
外傷部門²

【検討1】 Kupffer 細胞の阻害剤とされる Gadolinium Chloride (GdCl₃) の投与マウスでは LPS 刺激による Kupffer 細胞の活性酸素産生は抑制されたが、TNF 産生は逆に顕著に亢進した。さらに GdCl₃ 処理マウスでは LPS 投与後、血中 TNF 値の著明な上昇とそれによる致死率の上昇が認められた。これらの結果より、GdCl₃ により除去されるのは活性酸素産生 Kupffer 細胞であり、TNF 産生 Kupffer 細胞の機能が亢進する可能性が示された。すなわち 2 種類の Kupffer 細胞の存在が示唆された。

【検討2】 マウスの肝単核球を採取し、F4/80⁺Kupffer 細胞の subset を解析すると、明確に CD11b⁺ と CD68⁺ の 2 つに分類できた。脾や末梢血マクロファージは CD11b⁺F4/80⁺ のみで、CD68⁺ subset は肝に特異的であった。CD11b⁺ Kupffer は LPS 刺激で高い TNF や IL-12 の産生性を示し、CD68⁺ Kupffer は旺盛なマイクロビーズの食食と LPS や ATP 刺激での強い活性酸素産生を認めた。CD11b⁺ Kupffer は *in vivo* の LPS 投与で増加したが、*vitro* 環境下に肝単核球を LPS で刺激培養しても増加せず、脾をはじめとする肝外から遊走して来ることが考えられた (immigrant Kupffer)。CD68⁺ Kupffer は *vivo*、*vitro* いずれの LPS 刺激でも増加せず、肝に固着し存在すると考えられた (resident Kupffer)。肝組織切片で CD68⁺ Kupffer はグ鞆と中心静脈との中間帯に多く存在したが、CD11b⁺ Kupffer は偏りなく一様に存在した。GdCl₃ や Clodronate liposome 処理マウスでは CD68⁺ Kupffer は消失したが、CD11b⁺ Kupffer は逆に増加・活性化した。

【結語】肝には組織固着の resident Kupffer と肝外から遊走する immigrant Kupffer が存在し、前者は CD68⁺ で旺盛な食食と活性酸素産生、すなわち殺菌能を有し、後者は CD11b⁺ で高い炎症性サイトカイン産生性能を有することを見出した。両者が共同して肝での自然免疫応答に重要な役割を果たしていると考えられた。

マクロファージの Fas シグナル系を介した細菌感染防御メカニズム

○内山良介、筒井 ひろ子

兵庫医科大学医学部病原微生物学講座

[目的] 近年、細胞のアポトーシス誘導に重要な Fas シグナル系が、肝再生促進など細胞死誘導以外の役割を担うことが明らかにされている。一方、我々はこれまで自然免疫における Fas の役割について研究を行い、Fas シグナル系が感染防御に重要な炎症性サイトカイン IL-18 の産生に関与することを明らかにした。しかし、細菌感染防御における Fas シグナル系の役割については不明である。これを明らかにするために、今回 Fas 遺伝子欠損マウスを用いて、細胞内寄生性細菌 *Listeria monocytogenes* (Lm) に対する早期細菌感染防御における Fas シグナル系の役割を検討した。[方法] 野生型および Fas 遺伝子欠損マウスに Lm を尾静脈より接種し、血中 IL-18 濃度を ELISA 法により測定した。感染による肝臓病理変化はヘマトキシリン・エオジン染色により観察した。マウス腹腔細胞を回収し、in vitro 感染実験を行い、培養上清中の IL-18 濃度を ELISA 法により測定した。[結果/考察] 野生型に比べ Fas 欠損マウスでは、Lm 感染による血中 IL-18 濃度が有意に低く、肝臓に広範囲の壊死性病変が認められた。Fas リガンド欠損マウスを用いた実験でも同様なことから、Fas シグナル系が感染防御に寄与する可能性が示された。そこで Fas シグナル系を介した IL-18 産生機序を詳細に解析する目的で、in vitro で腹腔細胞に Lm を感染させたところ、NK 細胞に Fas リガンドの発現誘導が認められ、さらに NK 細胞の除去で IL-18 産生が有意に低下した。一方、マクロファージの Syk を阻害すると、IL-18 産生が有意に低下した。以上の結果より、Lm 感染により発現誘導された NK 細胞の Fas リガンドがマクロファージの Fas を介して Syk を活性化し、IL-18 産生が増強され、その結果、肝臓における効果的な感染防御機構が作動すると考えた。

シンポジウム 2
「血中エンドトキシン測定の見通し」
11月13日（土） 14:45～15:45

座長：谷 徹（滋賀医科大学外科学講座）
福井 博（奈良県立医科大学第3内科）

敗血症患者における ESP 法による血中エンドトキシンの評価

○清水智治¹、赤堀浩也¹、三宅 亨¹、村田 聡¹、山本 寛¹、小幡 徹²、遠藤善裕³、谷 徹¹
滋賀医科大学外科学講座¹、(財)微生物化学研究会特定研究推進グループ²、滋賀医科大学臨床看護学³

(はじめに) 外科感染症においてその生体反応を引き起こす原因物質としてエンドトキシン (Et) や peptidoglycan、 β グルカン、DNA、RNA といった微生物を構成する病原関連分子パターンが重要な役割を担っている。その中でも Et はもっとも強い生体反応を引き起こす物質である。現在、Et を検出する方法としてリムルスアッセイ法 (LAL 法) が用いられている。現在 Et の測定に用いられる比濁時間分析法 (従来法) は感度が低く、敗血症ショックでもほとんど検出できないことが多い。小幡らにより LAL 法を応用した高感度エンドトキシン測定法 (Endotoxin Laser Scattering photometry; ESP 法) が開発され、従来の数倍の感度かつ短時間で測定できるようになった。今回、我々は、ESP 法を用いて腹膜炎にて手術を必要とした症例での血中 Et の評価を行った。

(方法) 腹膜炎手術 5 症例 (大腸穿孔 2 例、大腸憩室炎 3 例) を対象として術前・術後に採血を行い、ESP 法により Et の測定を行った。

(結果) Septic shock に陥った症例が 1 症例、Sepsis まだが 4 症例であった。non-SIRS の状態の患者でも ESP 法では検出可能であった。周術期の患者状態 (non-SIRS、sepsis、septic shock) 分類して、エンドトキシン値 (median (25 percentile- 75 percentile)) を比較したところ、non-SIRS: 0.90 (0.46 - 2.74) pg/mL、sepsis: 20.8 (12.4 - 43.1) pg/mL、28.0 (10.6 - 240.4) pg/mL であり、non-SIRS と sepsis、septic shock にて有意差を認めた。さらに、septic shock を来した症例では病態の改善と共に Et 値は減少したが、病態が急変して再度 septic shock に陥った際には、血中 Et 値の再上昇を認めた。(まとめ) 腹膜炎手術症例において ESP 法を用いて従来法では検出できていなかった Et を検出が可能であり、患者の敗血症状態を把握することが可能であった。今後大規模な症例検討を重ねて検討を行っていく必要があると考えている。

Endotoxin Activity Assay (EAA) の有用性と限界

○安宅一晃¹、木西悠紀¹、梅井菜央¹、菅 健敬¹、大塚康義¹、宇城敦司¹、
徳平夏子¹、嶋岡英輝¹、西 信一²
大阪市立総合医療センター集中治療部¹、兵庫医科大学集中治療医学科²

【はじめに】

エンドトキシンはグラム陰性桿菌の細胞壁に存在し、血中に放出されることで炎症性サイトカイン等を誘導し敗血症や敗血症性ショックを引き起こす重要なトリガーである。血中のエンドトキシンを測定することは敗血症や敗血症性ショックを早期に診断し適切な治療を行うためにも不可欠である。その測定法には確実性と迅速性が必要である。しかし、現在血中のエンドトキシンを定量法としてはリムルス法があるが測定値の確実性がなく、迅速性もない。この方法は敗血症の診断としては臨床的に有用とはいえない。今回、化学発光法に基づいた測定法としてEAAの臨床的有効性とその限界について検討したので報告する。

【対象と方法】

肺炎や腹膜炎でICUに入室した30例を対象にした(I群)。対照群は特に感染を認めない34例とした(C群)。まず2群の入室時点のEAAを比較した。さらに感染症であるI群の培養結果とEAAの変化を比較し、臨床経過とを比較も行った。またこれらのうちエンドトキシン吸着や血漿交換を行った前後のEAAの変化を比較した。

【結果と考察】

入室時のEAAはI群 0.56 ± 0.27 、C群 0.21 ± 0.13 と有意に高く、臨床経過と一致していた。またI群でのEAAはグラム陰性桿菌感染の症例で高い傾向にあった。臨床経過とEAAの推移では敗血症性ショックなど循環動態の変化の前にEAAの上昇を認めるなどEAAの推移はEndotoxinの血中の変化を示していた。しかし、エンドトキシン吸着療法前後の短時間では一定の傾向を示さなかった。EAAはエンドトキシンが関与する病態の反映にはなるが、エンドトキシンそのものの測定ではないことや病態の推移を見るのは有用ではないなどの問題点があり、今後さらなる検討が必要である。

消化器内科領域における Endotoxin Activity Assay (EAA) の有用性についての検討

○藤本正男、武山真也、北澤利幸、辻本達寛、瓦谷英人、植村正人、福井 博
奈良県立医科大学第3内科

【はじめに】EAAは血液検体中のエンドトキシン(Et)と試薬中の抗Et抗体の複合体が好中球に作用して放出される活性酸素を化学発光測定するもので、全血を用いて迅速測定が可能であり、その測定値は敗血症患者の重症度および予後と関連することが報告されている。今回、消化器内科領域の特に肝胆膵疾患におけるEAAの有用性について検討した。【対象と方法】健常者(NS)14名を対象として基準値、および基準範囲を検討した。当院入院56例を対象としてEA値を測定し、EAA high群、EAA intermediate群、EAA low群に分け、さらにEAA low群はNSの基準値を境に2群に分けて疾病の内訳を比較検討した。【結果】NS14名のEA値のmean±SDは0.114±0.057で、mean+2SDは0.228であった。EAA high (>0.6EA)群6例の内訳は肝硬変(LC)2例(脾動脈塞栓術後、特発性細菌性腹膜炎(SBP)各1例)、重症急性膵炎、急性閉塞性化膿性胆管炎(AOSC)、胆管癌術後再発、肝門部胆管癌による閉塞性胆管炎が各1例であった。EAA intermediate (0.4-0.6EA)群9例の内訳はLC3例(難治性腹水2例、肝性脳症1例)、AOSC2例、慢性肝内胆管炎、硬化性胆管炎、終末期肝癌、軽症急性膵炎各1例であった。EAA low (<0.4EA)群41例を基準範囲上限0.23を境に2群に分けると、EAA 0.23-0.39群は14例、0.23未満群は27例となり、その内訳は前者がLC6例(腹水1例、難治性腹水3例、門脈血栓症1例、代償期1例)、潰瘍性大腸炎1例、AOSC回復期1例、肝癌4例(TACE直後1例、門脈浸潤1例、多発例2例)、閉塞性黄疸2例(膵癌1例、総胆管結石1例)で、後者は急性胆石胆嚢炎1例、LC10例(腹水3例、肝性脳症2例、食道静脈瘤破裂2例、代償期3例)、閉塞性黄疸6例(膵癌1例、総胆管結石5例)、肝癌4例、慢性肝炎2例、AOSC回復期2例、前イレウス状態1例、軽症急性膵炎1例であった。【考察】閉塞性黄疸では胆管炎合併例のEA値は非合併例に比して高値の傾向にあり、特にAOSCの急性期に著増し回復に伴い低下した。急性膵炎では重症例で高値を示した。LCでは難治性腹水例やSBP例で特に高値を示した。悪性疾患では合併症併存例や終末期症例で高値であった。EA値は病態の重症度の指標となるとともに、Etの関与を反映して推移する可能性が示唆された。

一般演題 1～5

11月13日(土) 9:10～10:00

座長：横地高志(愛知医科大学微生物・免疫学)
松本昌美(奈良県立五條病院)

一般演題 1

高脂肪高コレステロール摂取マウスにおける全身性シュワルツマン反応の増悪と血管内皮細胞傷害について

○庄野 聡¹、木下 学²、中島裕幸²、羽生仁子²、中島正裕²、佐藤厚志²、
小野 聡³、妻鳥 元太郎¹、関 修司²
防衛医科大学校防衛医学¹、防衛医科大学校免疫微生物学²、
防衛医科大学校防衛医学研究センター外傷研究部門³

緒言：高脂肪コレステロール食(High fat and cholesterol diet: HFCD)摂取時の高コレステロール血症では、エンドトキシンショックや全身性シュワルツマン反応が増悪することを報告してきた。今回、血管内皮系細胞 TKD2 を用い、HFCD でシュワルツマン反応後の細胞傷害について興味深い結果が得られたので報告する。

方法：マウスに3週間、HFCD または HFD (high fat diet) を与え、IL12 を腹腔内前投与し、16 時間後に体重当たり LPS 2.5mg/kg 投与し、所謂全身性シュワルツマン反応を起こさせ、その予後とサイトカインの変化について検討した。次に全身性シュワルツマン反応後のマウスより肝リンパ球を抽出し、血管内皮系細胞である TKD2 に対する細胞傷害活性について検討した。

結果：HFCD 摂取マウスで全身性シュワルツマン反応後の生存率は低下し、TNF および IL-12 値も有意に増加した。さらに全身性シュワルツマン反応後の TKD2 に対する細胞傷害活性が HFCD で高値となった。細胞傷害活性は、抗 Fas-L 抗体で抑制されることはなかったが、パーフォリン抑制物質である concanamycin A で抑制された。また、あらかじめ in vivo で抗 asialo GM1 抗体を投与すると細胞傷害活性は軽度抑制され、抗 NK1.1 抗体ではさらに抑制された。

結語：全身性シュワルツマン反応における血管内皮系細胞に対する傷害では肝 NK 細胞および NKT 細胞が関与しており、HFCD はその傷害を増強した。また、そのメカニズムとしてパーフォリン、グランザイム依存性の細胞傷害が関わっていることが示唆された。

マウスにおける真菌 mannan (MAN) によるアナフィラキシー様急性ショック反応： lipopolysaccharide (LPS) との比較

○船山 ひろみ¹、黄 玲^{2,3}、朝田芳信¹、横地高志⁴、高田 春比古³、
遠藤康男²

鶴見大学歯学部小児歯科¹、東北大学大学院歯学研究科口腔分子制御学²、東北大学大学院歯学研究科口腔微生物学分野³、愛知医科大学微生物・免疫学⁴

【目的】ある種の細菌・真菌の全菌体や菌体成分をマウスに静脈注射すると、マウスは 10-15 分でアナフィラキシー様急性ショック (ALS) を起こす。私達は、ALS に先立って、ある種の LPS では補体依存的に血小板が肺と肝臓に集積し脱顆粒を起こし、これが ALS をもたらすことを報告した。一方、MAN は platelet-activating factor (PAF) を介して ALS を誘導することが報告されている。しかし、PAF はマウスの血小板を活性化しないとされており、MAN-ALS への血小板の関与は不明である。今回我々は、*Saccharomyces cerevisiae*-MAN (東北薬大・松本達二教授より分与) と *Klebsiella* O3-LPS を用いて、これらによる ALS と血小板との関係について比較検討した。

【方法】 ddY または BALB/c マウスに MAN および LPS を静脈注射し、血液、肺、肝臓での血小板の動態とショックスコアを測定した。血小板の動態は Cell counter による血中血小板数とセロトニン (5HT) を指標に追跡した。

【結果】 ① MAN と LPS による ALS は、マウスの系統に依存する。MAN-ALS の発現において ddY マウスは高感受性だが BALB/c マウスは抵抗性である (LPS の場合とは逆)。② MAN-ALS の発現は補体非依存性であり、ddY で MAN は ALS を誘導したが、血小板反応の程度は弱かった。③ 血小板を枯渇すると LPS-ALS は抑制されるが、MAM と PAF による ALS はむしろ増強された。④ MAN-ALS と PAF-ALS は、PAF antagonist によって抑制された (LPS-ALS は抑制されない)。⑤ MAN-ALS と LPS-ALS は、muramyl dipeptide (MDP、ペプチドグリカンの要構造で NOD2 のリガンド) を前投与すると増強され、マクロファージを枯渇すると抑制された。⑥ MAN と LPS を同時投与すると、ddY と BALB/c どちらにおいても ALS が増強された。

【考察】以上の結果は以下を示唆する。(i) MAN-ALS と LPS-ALS は、いずれもマウス系統とマクロファージに依存する。(ii) MAN-ALS は、PAF 依存性ではあるが、LPS やグラム陽性菌菌体の場合とは異なり、血小板非依存性である。(iii) 真菌 (MAN) とグラム陰性性菌 (LPS) は宿主の免疫応答 (ALS) を相互に増強し、また、真菌とグラム陰性性菌に対する宿主の免疫応答は、いずれも、細菌に普遍的な MDP 構造により prime される。

酸化肺サーファクタントリン脂質によるLPS惹起炎症応答抑制機構

○西谷千明¹、有木 茂¹、高橋素子¹、栗村 雄一郎^{1, 2}、斎藤充史^{1, 3}、
長谷川 喜弘^{1, 3}、清水健之⁴、黒木由夫¹、
札幌医科大学医学部医化学¹、札幌医科大学医学部泌尿器科²、札幌医科大学医学
部第3内科³、高知大学医学部免疫学⁴

肺サーファクタントは、肺胞の虚脱を防ぎ、呼吸機能維持に必須のリポ蛋白質であり、その大部分はリン脂質から構成されている。また、Toll様受容体(TLR) 4は、リポ多糖(LPS)のシグナル受容体であるが、TLR4を介するLPSシグナル伝達には、MD-2とCD14の存在が必須である。最近、肺サーファクタントリン脂質であるPalmitoyl-oleoyl-phosphatidylglycerol及びphosphatidylinositolが、CD14やMD-2に結合することで、LPS惹起炎症性サイトカイン分泌を抑制することが報告された。さらに、1-palmitoyl-2-arachidonyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine(PAPC)の過酸化物質(OxPAPC)が、CD14およびMD-2を介してLPS刺激を阻害することが報告された。しかし、肺サーファクタント脂質(SL)はPAPCを含んでおらず、LPSが惹起する炎症応答に対する酸化肺サーファクタント脂質(OxSLs)の影響は不明である。そこで、本研究では、LPSが惹起する炎症性細胞応答に及ぼすOxSLsの影響を明らかにすることを目的として解析を行った。ラットの気管支肺胞洗浄液からSLsを分離後、自動酸化によりOxSLsを作成した。TLR4/MD-2/NF- κ Bレポーター遺伝子発現HEK293細胞を用いた解析から、OxSLsはLPSによるNF- κ B活性化を抑制した。同様に、OxSLsは、ヒト単球系細胞であるTHP1細胞のTNF- α 分泌を抑制した。さらに、MD-2及びCD14とLPSとの結合に及ぼすOxSLsの影響を解析した。その結果、OxPAPCは、MD-2及びCD14とLPSとの結合を阻害したが、OxSLsは阻害しなかった。以上の結果から、OxSLはOxPAPCとは異なる機序でLPSが惹起する炎症性細胞応答を抑制することが明らかとなった。

LPS で誘導される微小血管内皮細胞のアポトーシスに対するヒト抗菌ペプチド LL-37 の抑制作用

○鈴木 香¹、村上泰介¹、田村弘志²、長岡 功¹

順天堂大学医学部生化学学生体防御学講座¹、生化学バイオビジネス株式会社²

【背景】敗血症は、細菌感染に対する過剰な宿主応答による全身性疾患である。敗血症の初期において、単球系細胞から放出されるサイトカインが全身性の炎症反応（SIRS）を誘導するが、この段階で感染制御が困難な場合に肺や肝臓で血管内皮細胞がアポトーシスを起こすと、微小循環が破綻して臓器障害を合併する。グラム陰性菌の外膜成分であるリポ多糖（LPS）は、こうした様々な宿主応答に関与する。我々はこれまでに、cathelicidin ファミリーのヒト抗菌ペプチド LL-37 が LPS を中和することで、単球系細胞によるサイトカイン産生を抑制することを明らかにした。本研究では、LPS で誘導される血管内皮細胞のアポトーシスに対する LL-37 の効果を、ヒト肺由来微小血管内皮細胞（HMVEC-L）の培養系とマウスエンドトキシンショックモデルを用いて解析した。

【結果・考察】LL-37 は、LPS とシクロヘキシミドで誘導される HMVEC-L のアポトーシスを有意に抑制した。また、LL-37 は LPS の HMVEC-L への結合を阻害した。さらに、アポトーシスと LPS の結合は、CD14 や TLR4 の中和抗体によって抑えられることが分かった。従って、LL-37 は血管内皮細胞への LPS の結合を阻害することで、CD14 や TLR4 を介したアポトーシスを抑制すると考えられた。さらに、D-ガラクトサミン負荷マウスエンドトキシンショックモデルに LL-37 を投与すると、肝臓の血管内皮細胞のアポトーシスが抑制されただけでなく、肝実質細胞のアポトーシスも抑制された。以上の結果から、ヒト抗菌ペプチド LL-37 は、血管内皮細胞のアポトーシスを抑制して、敗血症に合併する臓器障害を軽減させる可能性が示された。

ローヤルゼリー中に含まれる中鎖脂肪酸10-hydroxy-trans-2-decenoic acidによるLPS シグナル制御

○杉山剛志、高橋圭太、森 裕志
岐阜薬科大学生命薬学大講座微生物学研究室

蜜蜂の産物であるローヤルゼリー (RJ) は女王蜂の幼虫を成育させる食餌であり、働き蜂の下咽頭腺と大腮腺から分泌される。RJ 中にはタンパク質、糖質、脂質、アミノ酸、ビタミン、ミネラルなど豊富な栄養素が含まれ、女王蜂は一生RJのみを食べることにより4~5年の寿命を得る。これは遺伝的に同一な働き蜂と比べて数十倍の長寿命である。RJに特徴的な成分は脂質で、一般的に動植物細胞に含まれる脂肪酸が炭素数14~20であるのに対し、RJには炭素数8または10の中鎖脂肪酸が大部分を占め、中でも10-hydroxy-trans-2-decenoic acid (以下デセン酸) はRJに特有の脂肪酸である。本研究ではこのデセン酸について、LPS シグナルへの影響について検討した。

マウス由来マクロファージ様細胞株 RAW264 はLPS 刺激により種々のサイトカインおよびNOを産生するが、デセン酸はIL-6 およびNO産生を抑制した。一方、TNF- α 、IFN- β やMCP-1等のケモカイン産生は抑制されなかった。レポーター遺伝子アッセイではデセン酸の添加によりNF- κ Bの活性化に抑制がみられたが、IKK- α のリン酸化やI κ B- α の分解には影響は見られなかった。IL-6の抑制がみられたことから、その発現に必須とされるI κ B- ζ について検討ところ、デセン酸添加によりI κ B- ζ の発現は転写レベルで抑制され、I κ B- ζ 依存性に発現するlipocalin-2やG-CSFの発現も抑制された。さらに、TNF- α 刺激によるNF- κ Bの活性化がデセン酸により抑制されることが確認され、NO産生の抑制はNF- κ Bの活性化が抑制されることによると考えられた。

以上の結果から、デセン酸はLPS刺激によるNF- κ Bの活性化を抑制することによりI κ B- ζ の発現を抑制し、IL-6を含むI κ B- ζ 依存性遺伝子群の発現を抑制すること、また同様にNF- κ B活性化の抑制によりNO産生を抑制することが明らかになった。

一般演題 6～10

11月13日(土) 15:50 ～ 16:40

座長：筒井 ひろ子 (兵庫医科大学病原微生物学)
小谷 穰治 (兵庫医科大学救急救命センター)

バルプロ酸は HMGB1 の能動放出を誘導して、エンドトキシンショックに対する感受性を高める

○杉浦進介^{1,2}、石原裕一²、小松寿明¹、萩原 真¹、谷川順美¹、
水谷大樹²、加藤佳子²、江口傑徳¹、野口俊英²、松下健二¹
独立行政法人国立長寿医療研究センター口腔疾患研究部¹、愛知学院大学
歯学部歯周病学講座²

【背景】近年、マクロファージ系細胞から遊離される核内タンパク質 High Mobility Group Box 1 (HMGB1) が、LPS をはじめとする Toll-like receptors (TLRs) のリガンドと共役し、自然免疫応答を増強することが報告されている。本研究では、VPA による HMGB1 の放出機序をマクロファージ系細胞培養系で明らかにするとともに、LPS に対する同分子の感受性増強作用についてマウスモデルで検討した【方法】VPA 刺激による RAW 細胞からの HMGB1 放出機序を ELISA、蛍光免疫染色、および Western blot 法で検討した。LPS 投与の 12 時間前に VPA を Balb/c マウスに皮下投与、その後 *E. coli* LPS を腹腔内投与し、以後 8 日間マウスの生死を観察した。【結果】VPA は GABA 受容体および ERK1/2 の活性化を介して、HMGB1 の放出を強く誘導した。VPA の前処理により LPS 刺激による HMGB1 の放出が著しく亢進した。VPA の前投与により LPS 投与マウス血清中の Interleukin-6 (IL-6) および HMGB1 濃度の上昇ともにマウス致死率の上昇が認められた。さらに、VPA とともに抗 HMGB1 抗体を前投与することによって、同モデルにおけるマウスの致死率が改善された。【考察】VPA は HMGB1 の放出を介してエンドトキシンに対する感受性を増強する可能性が示唆された。

肝不全における血漿エンドトキシン濃度と ADAMTS13 活性の動態

○高谷広章¹、植村正人¹、藤本正男¹、松山友美¹、森岡千恵¹、石川昌利¹、
辻本達寛¹、瓦谷英人¹、松本雅則²、藤村吉博²、福井 博¹
奈良県立医科大学第3内科¹、奈良県立医科大学輸血部²

【目的】ADAMTS13は超高分子量VWF multimer (UL-VWFM)を分解するが、本酵素活性が低下すると易血栓形成となり諸臓器の微小循環障害が惹起される。慢性ならびに急性肝不全では高率にエンドトキシン (Et) 血症が招来し、凝固活性化、多臓器不全等と密に関連するといわれている。今回、重症肝疾患の血漿Etを測定し、ADAMTS13活性との関連のもとに病態生理学的意義を検討した。

【方法】対象は肝硬変(LC) 84例、急性アルコール性肝炎(ALH) 23例、重症アルコール性肝炎(SAH) 5例、急性肝炎(AH) 24例、急性肝不全(AHF) 11例である。血漿ADAMTS13活性はELISA、Etは血漿を70度、10分間過熱処理後、Toxicolor Kitにて測定した。

【成績】健常人のEt濃度は10pg/ml以下(平均7.6pg/ml)であった。LC-Child A、5.0pg/ml、Child B 25.9pg/ml、Child C 30.0pg/ml、ALH 21.7pg/ml、SAH 52.3pg/ml、AH 7.2pg/ml、AHF 39.0と肝障害が重篤になるに従って上昇し、SAHで最も高値を示した。ADAMTS13活性は健常者100%に比し、LC-Child A 79%、Child B 63%、Child C 31%、ALH 58%、SAH 24%、AH 68%、AHF 23%とChild C-LC、SAH、AHFで低値を示し、Child Cの5例、AHFの2例は3%以下にまで低下した。LCにおいてEt濃度が10pg/ml以上の群は以下の群に比し、ADAMTS13活性は低値、VWF/ADAMTS13比は高値であり、Crは高値を示した。アルコール性肝炎において、Et濃度はADAMTS13活性と負の相関、UL-VWFM陽性例は陰性例に比し高値を示した。急性肝不全では血漿Et濃度が20pg/ml以上の群は以下の群に比して、ADAMTS13活性が低値であった。

【結論】慢性ならびに急性肝不全では血漿Et濃度は高値となり、ADAMTS13活性は低下する。高度なEt血症は、ADAMTS13活性の著減とUL-VWFMの出現に関連し、肝不全における微小循環障害に伴う多臓器不全の進展に関与する可能性がある。

アルコール性肝障害モデルにおけるサイトカイン産生調整薬の効果

○瓦谷英人、辻本達寛、北澤利幸、藤本正男、植村正人、福井 博
奈良県立医科大学第3内科

【目的】アルコール性肝障害では、内因性エンドトキシンがTLR-4やTNF- α 等の自然免疫機構を活性化することが指摘されている。今回アルコール性肝障害モデルラットに、TNF- α やIFN- γ の産生を抑制し、IL-10の産生を増強するサイトカイン産生調整薬Y-40138を投与し、その効果について検討した。

【方法】雄性7週齢Wistarラットに、5%エタノール含有液体飼料(Lieber食)およびコントロール飼料(コントロール食)を16週間投与した。さらに、コントロール食、Lieber食投与群をそれぞれY-40138投与群と非投与群に分けた。血清ALT、TG、TNF- α 、IFN- γ と全肝TNF- α 、IFN- γ 、IL-10含量(ELISA法、real-time PCR法)およびTG含量を測定した。次に肝組織でのHE染色、Oil Red-O染色さらに免疫染色(α -SMA、TNF- α 、4HNE)を施行し、各群間で比較検討した。

【成績】血清ALT、TG、全肝TG含量はコントロール食投与群に比しLieber食投与群で上昇しY-40138投与で改善した。血清、全肝のTNF- α 、IFN- γ も同様にLieber食投与群で上昇しY-40138投与群で改善した。全肝IL-10含量はコントロール食投与群、Lieber食投与群は同等で、Y-40138投与群で上昇した。Oil Red-O染色、 α -SMA染色ではLieber食投与群で濃染の増強を認めたがY-40138投与群で改善した。TNF- α 、4HNE染色も同様に、Lieber食投与群で濃染の増強を認めたが、Y-40138投与群で改善した。

【結論】Y-40138はアルコール性肝障害モデルにおいて、TNF- α やIFN- γ の産生を低下しIL-10の産生を上昇させ、肝での炎症、脂肪沈着、線維化、酸化ストレスを改善させた。アルコール性肝障害において、サイトカイン産生調整薬Y-40138は自然免疫に関与し新しい治療薬になりうる可能性が示唆された。

炎症性サイトカインによる腸管粘膜補体成分 C3 の発現コントロールについての検討

○今枝広丞¹、安藤 朗²、馬場重樹¹、稲富 理¹、辻川知之¹、
佐々木 雅也¹、齋藤康晴¹、藤山佳秀¹
滋賀医科大学消化器内科¹、滋賀医科大学大学院医学系研究科消化器免疫分野²

[背景]補体の活性化は古典的な自然免疫機構として、生体防御において重要な役割を果たしている。腸管粘膜局所には分泌型 IgA システムと連動した補体系蛋白の産生が知られているが、IBD などの腸炎との関連は明らかになっていない。今回、IBD 病変粘膜における補体成分 C3 mRNA 発現を検討し、さらにその誘導における IL-17 の意義について検討した。[方法] 正常ヒト大腸粘膜における C3 mRNA 発現を *in situ* hybridization にて検討した。内視鏡下生検で得られた正常大腸粘膜 10 検体、UC 23 検体、CD 28 検体より全 RNA を抽出し、real-time PCR 法で C3 mRNA 発現を検討した。ヒト大腸筋線維芽細胞を IL-17 で刺激し C3 mRNA と蛋白産生を PCR および ELISA にて検討した。[結果] 正常ヒト大腸粘膜の陰窩深部の上皮細胞に C3 mRNA の発現が認められた。この発現は、管腔側に向かって減弱した。C3 mRNA 発現は、正常大腸粘膜に比較して、UC 活動期粘膜では平均 5.4 倍、寛解期で 1.1 倍、CD 活動期 2.4 倍、非活動期 1.7 倍の C3 mRNA 発現亢進が認められた。ヒト大腸筋線維芽細胞を IL-17 で刺激したところ、C3 mRNA、蛋白の産生が濃度、時間依存性に認められた。一方、LPS には C3 の誘導効果は認められなかった。[考察] ヒト大腸粘膜では補体の局所産生が認められ、IBD の活動期にはその産生が増強することが明らかになった。そのメカニズムの一端に IL-17 の関与が示唆された。大腸局所で補体 C3 が産生され、生体防御機構の一端を担っていると考えられる。

低濃度一酸化炭素吸入はラット出血性ショックモデルによる急性肺傷害を軽減する

○川西 進¹、森松博史¹、清水裕子¹、松三昌樹²、高橋 徹³、森田 潔¹
岡山大学病院麻酔蘇生学講座¹、竜操整形外科病院麻酔科²、岡山県立大学保健福祉学部³

【目的】出血性ショック (HSR) は急性肺傷害 (ALI) をきたす。低濃度の一酸化炭素 (CO) 吸入には臓器保護効果があり、今回われわれは HSR による ALI に対する CO の効果を検討した

【方法】雄性 SD ラットを脱血により平均血圧 30mmHG に 60 分間維持し、その後蘇生し HSR モデルを作成した。その後 250ppm の CO を 3 時間吸入させた。肺サンプルを用いて肺傷害スコア、好中球浸潤度、MPO、Wet/dry 比、TNF- α ・iNOS・IL-10 mRNA、NF- κ B、AP-1 を測定した。

【結果】HSR によって著明な肺傷害が観察された。CO 吸入によって肺傷害は軽減し、炎症性メディエーター発現や転写因子活性の抑制と、抗炎症性サイトカインの上昇が見られた。

【結語】ラット HSR による ALI への低濃度の CO 吸入は治療効果があり、その機序として IL-10 の上昇を介する抗炎症作用が考えられた。

一般演題 11～14

11月13日(土) 16:45～17:25

座長：高田 春比古 (東北大学大学院歯学研究科
口腔微生物学分野)

高橋 徹 (岡山県立大学保健福祉学部)

脊椎動物祖先的生物ホヤはハイブリッド型の Toll 様受容体を持つ

○佐々木 尚子、関口俊男、楠本正一、佐竹 炎
(財) サントリー生物有機科学研究所

哺乳類において Toll 様受容体 (TLR) は、病原体を検知して初動的な自然免疫系を始動するとともに、獲得免疫をも制御する。ヒトでは 10 種類の TLR が同定されており、各 TLR が特異的に認識する病原体構成成分に応じて、細胞内での局在性が決まっている。しかし、脊椎動物の TLR ファミリーが自然免疫機構を確立するに至った進化的側面は明らかになっていない。また、哺乳類以外の脊椎動物や無脊椎動物では、TLR 様遺伝子がゲノム中に多く確認されているが、認識する病原体構成成分、細胞内局在、シグナル伝達機構はほとんど解明されていなかった。我々は、脊椎動物と共通の先祖を有する原索動物カタユウレイボヤに着目し、二種類の TLR (Ci-TLR 1、-2) をクローニングした。Ci-TLR には、TLR の構造的特徴である TIR ドメインやロイシンリッチリピート構造が保存されていたが、リガンドとなる病原体構成成分や細胞内局在を配列相同性から予測することは困難であった。そこで、培養細胞株に安定発現させ、細胞内局在および認識リガンドを調べたところ、Ci-TLR1、-2 ともに細胞膜とエンドソームの両方に局在し、ヒト TLR に作用するのと同程度のリガンド濃度で zymosan、HKLP、poly(I:C)、flagellin の同じ 4 種類のリガンドを認識することが明らかになった。さらにカタユウレイボヤ組織では、胃や腸、血球に発現し、これらの組織に上記のリガンドを投与すると、炎症性サイトカイン TNF α の産生量が増加することが明らかになった。以上の結果から、ホヤにも自然免疫系は保存されており、Ci-TLR は哺乳類の細胞膜型とエンドソーム型両方の TLR の特徴を合わせ持つ「ハイブリッド型」であることを実証した。

肺コレクチンによるレジオネラ菌の増殖抑制

肺コレクチンによるレジオネラ菌の増殖抑制

○齋藤充史^{1,2}、有木 茂¹、長谷川 喜弘^{1,2}、栗村 雄一郎¹、西谷千明¹、
高橋素子¹、高橋弘毅²、黒木由夫¹

札幌医科大学医学部医化学¹、札幌医科大学医学部第3内科²

レジオネラ菌は呼吸器感染症を引き起こす細胞内寄生性のグラム陰性桿菌であり、レジオネラ肺炎の原因菌として知られている。我々の最近の研究で、肺コレクチン (SP-A および SP-D) は、レジオネラ菌体にカルシウムイオン依存性に結合し、培地中でのレジオネラ増殖や感染時の宿主細胞の細胞膜傷害を抑制することが明らかとなった。さらに、細胞内ではレジオネラとリソソームの融合を促進することでレジオネラ菌の細胞内増殖を抑制した (Sawada et al. , *J. Biol. Chem.* ,285,8434-8443)。これらの結果より、肺コレクチンはレジオネラ感染に対して防御的役割を担っていることが証明されたが、その詳細な分子メカニズムは不明であった。

オートファジーは、ユビキチン-プロテオソーム系と並び、恒常性を維持するために働く細胞内タンパク質分解機構の一つである。近年、細胞内寄生細菌の排除過程においてもオートファジーが重要な役割を担っていることが明らかとなってきており、レジオネラ感染時にもオートファジーが誘導される。今回我々は、レジオネラ感染時のオートファジーに着目し、ウエスタンブロットおよび免疫染色による解析を行なった。その結果、肺コレクチン存在下ではレジオネラ感染時の LC3-I から LC3-II への変換、およびオートファゴソームの形成が抑制されることが明らかとなった。一方、肺コレクチンはラパマイシンにより誘導されるオートファジーには影響を及ぼさなかった。したがって、肺コレクチンはレジオネラ菌感染時のオートファジーを特異的に抑制していると考えられる。レジオネラ菌の IV 型分泌装置は感染時における細胞膜障害、細胞内増殖、オートファジーの誘導などに必要不可欠な機構であることが報告されている。本研究の結果から、肺コレクチンが IV 型分泌装置に何らかの影響を与えている可能性が推測される。

非定形抗酸菌感染に対する肺コレクチンの生体防御機構の解明

○有木 茂¹、賀佐伸省²、小島 隆³、斎藤充史¹、西谷千明¹、高橋素子¹、
清水健之¹、栗村 雄一郎¹、澤田典均³、藤井暢弘⁴、黒木由夫¹
札幌医科大学医学部医化学¹、札幌医科大学医学部化学²、札幌医科大学医学部病
理学³、札幌医科大学医学部微生物学⁴

肺サーファクタントは、肺泡 II 型細胞で合成され肺胸腔に分泌されるリポ蛋白質で、肺泡の全表面を覆い肺泡の虚脱を防ぐ生理活性物質である。肺サーファクタント蛋白質(SP)は、4 種類存在しており、疎水性の SP-B と SP-C は、主として表面活性作用に関与する。親水性の SP-A と SP-D は、C 型レクチンに属しており、肺コレクチンとして呼吸器の生体防御において重要な役割を担っている。また、細胞内寄生菌である非定形抗酸菌(*Mycobacterium avium*)は、主な日和見感染症原因菌の 1 つであり、呼吸器感染症を引き起こす。そこで、本研究では、非定形抗酸菌に対する肺コレクチンの生体防御機構を明らかにすることを目的として解析を行った。

肺コレクチンは、カルシウム依存性に非定形抗酸菌に結合したが、SP-A は菌体表層に存在する脂質成分を、SP-D はリポアラビノマンナン(LAM)をそれぞれ認識することが明らかとなった。また、SP-D は菌体凝集を引き起こしたが、SP-A は凝集活性を示さなかった。SP-A と SP-D のキメラ体を用いた解析から、菌体凝集には、SP-D の糖鎖認識領域のリガンド特異性が重要であることが明らかとなった。さらに、SP-A 及び SP-D は、非定形抗酸菌の増殖を阻害した。以上の結果から、肺コレクチンが非定形抗酸菌表層に存在する別々の分子を認識し、菌体の増殖抑制及び菌体凝集を促すことで非定形抗酸菌を感染局所に封じ込め、感染拡大を防いでいることが示唆された。

黄色ブドウ球菌由来免疫活性化物質に関する研究

○小野敬子、俵積田 一樹、隅田泰生、橋本雅仁
鹿児島大学大学院理工学研究科化学生命・化学工学

【目的】黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)は、TLR2 を介して自然免疫を活性化することが知られている。最近我々は、この活性化能がリポプロテインに由来することを明らかにした。しかし、リポプロテインが生体内の条件で発現されて、免疫活性化しているかどうかは不明である。そこで、様々な培養条件、特に生体内類似条件での *S. aureus* のリポプロテイン発現を解析した。

【方法】*S. aureus* は菌株として SA113、MRSA 369、DSM 20231 を用いた。培養は BHI、LB、NB、RPMI 1640、牛血清(BS)を用いて行った。リポプロテイン画分は菌体から TX-114 を用いた 2 相分配法により得た。SDS-PAGE 後のゲル内のタンパク質成分は、ゲル内 Trypsin 消化し、質量分析(MS)により同定した。また、ゲル内の成分は、ウエスタンブロッティング法を用いて分子量別の断片を得た後、Ba/TLR2 細胞を用いた NF- κ B 依存的ルシフェラーゼアッセイにより活性を測定した。

【結果・考察】細菌培養用培地である BHI、LB、NB を用いて培養したときは、リポプロテインの発現に変化はなかった。菌株間でも大きな変化はなかった。好気、嫌気など酸素濃度条件も発現には影響しなかった。しかし、動物細胞培養用の RPMI や BS では、細菌培地に比べて明らかにタンパク質の発現が変化した。そこで活性を検討した。それぞれの培地で培養した *S. aureus* 由来リポプロテイン画分は TLR2 を同程度に活性化することがわかった。また、TNF- α 誘導活性も同程度であった。次に、RPMI で発現するリポプロテインを同定した。これまでに 9 つのリポプロテインを同定し、そのうちの幾つかは鉄の獲得に関わっていることがわかった。そこで、培地中の鉄イオン濃度を変化させたところ、鉄イオンの少ない時に RPMI 型の発現を、多い時には BHI 型の発現を示した。以上の結果は、鉄イオンがリポプロテインの制御に関与していることを示している。生体内は遊離鉄イオンが少ないことから、*S. aureus* による炎症は RPMI と同様のリポプロテインが関与している可能性が考えられる。

謝 辞

本研究会の趣旨にご賛同とご理解賜り、ご支援下さいました各社の皆様に心から厚く御礼申し上げます。

〈協賛企業〉

旭化成ファーマ (株)	味の素製薬 (株)
アステラス製薬 (株)	アストラゼネカ (株)
アルフレッサファーマ (株)	小野薬品工業 (株)
(株) カイゲン	杏林製薬 (株)
興和創薬 (株)	サノフィ・アベンティス (株)
武田薬品工業 (株)	田辺三菱製薬 (株)
中外製薬 (株)	日本新薬 (株)
ノバルティスファーマ (株)	持田製薬 (株)

〈広告掲載企業〉

あすか製薬 (株)	アステラス製薬 (株)
MSD (株)	エーザイ (株)
グラクソ・スミスクライン (株)	(株) 三和化学研究所
塩野義製薬 (株)	大日本住友製薬 (株)
武田薬品工業 (株)	(株) ツムラ
ノボノルディスクファーマ (株)	ブリistol・マイヤーズ (株)
メルクセローノ (株)	

〈展示企業〉

東レ・メディカル (株)

〈ランチョンセミナー協賛〉

エーザイ (株)

第16回日本エンドトキシン・自然免疫研究会
当番世話人 福井 博