

P-07

免疫グロブリン製剤による貪食刺激好中球のオートファジー増強とその役割

京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻

○松尾 英将、伊藤 洋志、足立 壯一

【目的】 オートファジーは細胞死機構としてだけでなく、細胞質内に侵入した病原性細菌の排除など、自然免疫機構としても近年注目されている。我々はこれまでに、多剤耐性菌に対する好中球殺菌能が静注用免疫グロブリン (IVIG) 製剤添加により増強することを報告してきた。今回その詳細なメカニズムを解明すべく、オートファジーの関与について検討を行った。【方法】 好中球は健康人末梢血より分離した。被検菌は多剤耐性大腸菌・緑膿菌の臨床分離株とした。補体源として IgG を除去したヒト AB 型血清を用いた。好中球と被検菌を補体存在下で混合して貪食刺激を与え、IVIG 製剤 (献血ベニロン®-I、帝人ファーマ) 1mg/ml 添加の有無で好中球機能を比較した。オートファジーは LC3B 抗体を用いたウェスタンブロット、透過型電子顕微鏡観察、免疫蛍光染色で評価した。殺菌能はコロニー法で評価した。【結果】 補体存在下で多剤耐性菌を添加し貪食刺激した好中球において、ウェスタンブロットで LC3BI から II への転換がみられた。また、電顕所見において好中球の細胞質内に菌を包含するオートファゴソームの形成を認めた。免疫蛍光染色にて、好中球細胞質内に LC3 のドット状の凝集を認めた。これらの現象は、IVIG 製剤の添加により顕著に増強した。また、NADPH オキシダーゼ阻害剤である DPI、Apocynin の添加により好中球の活性酸素産生を抑制したところ、ウェスタンブロットで LC3BII バンドは減弱した。好中球殺菌能試験では、オートファジー阻害剤 Chloroquine、NH₄Cl を添加すると生菌率が上昇傾向を示した (Chloroquine:15% → 20%、NH₄Cl:43% → 63%)。【考察】 今回、IVIG 製剤による多剤耐性菌に対する貪食刺激誘導性のオートファジーの増強効果を明らかにした。このオートファジー機構は活性酸素産生依存的であり、また好中球の貪食殺菌機構に関与する可能性を見出した。好中球におけるオートファジーの詳細なメカニズムや機能を解明することで、多剤耐性菌感染症の新規治療法開発に繋がること期待される。

P-08

Neural stem cell-based dual suicide gene delivery for metastatic brain tumors

¹Department of Neurosurgery, Nagoya University School of Medicine, Nagoya, Japan

²Division of Neurology, Department of Medicine, UBC Hospital, University of British Columbia, Vancouver, Canada and Medical Research Institute, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

○¹Chuan Wang, ¹Atsushi Natsume, ²Hong J. Lee,

¹Kazuya Motomura, ¹Yusuke Nishimira,

¹Masaske Ohno, ¹Maki Ito, ¹Sayano Kinjo,

¹Hiroyuki Momota, ¹Kenichiro Iwami,

¹Fumiharu Ohka,

¹Toshihiko Wakabayashi, and ²Seung-Up Kim

The tumor-tropic properties of neural stem cells (NSCs) lead to a novel strategy for delivering therapeutic genes to tumors in the brain. In our previous works, we demonstrated that human NSCs that were transduced with cytosine deaminase (CD) gene showed remarkable 'bystander killer effect' on the glioma cells after administration of the prodrug, 5-fluorocytosine (5-FC). In addition, the herpes simplex virus thymidine kinase (TK) is a widely studied enzyme that is used for suicide gene strategies, and the prodrug for TK is ganciclovir (GCV). In order to apply this strategy to the treatment of brain metastases, we established a human neural stem cell line expressing dual suicide genes, CD and TK (F3.CD.TK) in this study. We examined whether F3.CD.TK intensified antitumor effect on lung cancer brain metastases. In vitro studies showed that F3.CD.TK exerted a remarkable bystander effect on human lung cancer cell lines after treatment with 5-FC and GCV. In addition, we developed a novel experimental brain metastases model. In this model, F3.CD.TK collaborated with administration of 5-FC and GCV prolonged survival periods significantly. The results of the present study indicated that the dual suicide gene engineered NSC-based treatment strategy might offer a new promising therapeutic modality for brain metastases.