

| |
|---|
| <p>サブテーマ名：DNA・抗体マイクロアレイの作製技術開発及びその作製・評価 小テーマ名：免疫細胞の機能分化に関わる遺伝子並びに遺伝子産物の解析2 （・ヒトの末梢血を用いた in vitro での Th1/Th2 細胞分化実験評価系の開発）</p> |
| <p>サブテーマリーダー（所属、役職、氏名）千葉県産業振興センター（研究員）今井一英 小テーマリーダー（所属、役職、氏名）千葉大学医学研究院（教授）中山 俊憲 研究従事者（所属、役職、氏名）千葉大学医学研究院（共同研究員）中山 俊憲</p> |
| <p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>①研究の概要 Th2細胞はI型アレルギー反応などの疾患において中心的な役割を果たす事が知られている。このことから、アレルゲンに対するTh2細胞の分化や機能を抑制することは、アレルギー疾患の根治療法の確立に繋がると考えられている。しかし、ヒトヘルパーT（Th）細胞の機能変化を正確かつ簡便に評価する方法が開発されていなかった。そこで、本研究ではヒト末梢血単核球からナイーブTh細胞を精製し、in vitroにおいて遺伝子導入または薬剤の添加を行いTh1/Th2細胞を分化させた後、細胞内染色法によりTh1/Th2細胞分化パターンの変化を、さらにDNAマイクロアレイにより特異的な遺伝子発現パターンの変化を検討することで導入遺伝子や薬剤の機能を評価するシステムの開発を目指した。</p> <p>②研究の独自性・新規性 これまでに、ヒトTh細胞の機能分化パターンを変化させる薬剤や遺伝子の正確かつ簡便な評価システムは開発されていない。</p> <p>③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） <u>フェーズⅠ（H14-H15）：該当しない</u> フェーズⅡ（H16-H18）：ヒトナイーブTh細胞を精製し、in vitroにおいてTh1/Th2細胞の分化誘導を効率的に行うシステムを確立する。 フェーズⅢ（H18. 11. 25事業完了日以降）：Th2細胞分化に影響を与えた薬剤や導入遺伝子の機能解析を行い、アレルギー疾患の病態解明を目指す。</p> |
| <p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して） ヒト末梢血から CD4⁺CD45RA⁺のナイーブ Th 細胞を AutoMACS により精製し、in vitro で一週間ごとに2回、固層化抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体で刺激する事で効率的に Th1、Th2 細胞の分化を誘導するシステムを確立した。 薬剤や導入遺伝子の作用メカニズムを解析する方法の一つとして、ナイーブTh/Th1/Th2細胞において特異的に発現している遺伝子の発現パターンをcDNAマイクロアレイを用いて検討した。得られたナイーブTh細胞、Th1細胞あるいは Th2細胞でのmRNAレベルの発現強度を解析した。</p> |
| <p>主な成果 具体的な成果内容： ナイーブTh細胞から効率よくTh1、Th2細胞を誘導するシステムを確立し、cDNAマイクロアレイによる特異的な遺伝子発現パターンの解析を行ったところ、Th1細胞での発現強度に比較してTh2細胞で40倍以上高い発現強度が認められた遺伝子が34種、100倍以上高い発現強度が認められた遺伝子が2種見出された。Th2細胞での発現強度に比較してTh1細胞で50倍以上高い発現強度が認められた遺伝子が47種、100倍以上高い発現強度が認められた遺伝子が9種見出された。 特許件数：0 論文数：6 口頭発表件数：0</p> |
| <p>研究成果に関する評価</p> <p>1 国内外における水準との対比 ヒトTh1/Th2分化パターンの変化を正確かつ簡便に評価する方法は国内外を含めてほとんど見当たらない。</p> <p>2 実用化に向けた波及効果 このシステムを用いて Th1/Th2 バランスを制御する新たな薬剤の同定、開発に役立つ事が期待される。</p> |

残された課題と対応方針について

このシステムに効率的に遺伝子を導入する方法を検討する必要があり、今後ヒトリンパ球での遺伝子導入効率が良いと報告されているレンチウイルスを用いた遺伝子導入法を確立する予定である。

| | J S T負担分 (千円) | | | | | | | 地域負担分 (千円) | | | | | | | 合 計 |
|---------------------------|---------------|---------|---------|---------|---------|---------|----|------------|---------|---------|---------|---------|---------|-----|-----|
| | H 13 | H 14 | H 15 | H 16 | H 17 | H 18 | 小計 | H 13 | H 14 | H 15 | H 16 | H 17 | H 18 | 小計 | |
| 人件費 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 設備費 | | | | | | | | | | | | | | | |
| その他研究費 (消耗品費、 材料費等) | | | | | | | | | | | | 128 | 125 | 253 | 253 |
| 旅費 | | | | | | | | | | | | | | | |
| その他 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 小 計 | | | | | | | | | | | | 128 | 125 | 253 | 253 |

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T負担による設備：なし

地域負担による設備 (千葉大学)：細胞培養装置、自動磁気細胞分離装置、細胞解析装置 (FACS) など

※複数の研究課題に共通した経費については按分する。