

審査の結果の要旨

氏名 長山人三

本研究は、ヒト免疫系において重要な役割を果たす抗原提示細胞である「樹状細胞」(以下 DC) について、ヒト末梢血単球からサイトカインを用いて分化誘導した単球由来 DC という再構成系を用いてその役割を明らかにしている。

DC はランゲルハンスの記載による皮膚樹状細胞、いわゆる「ランゲルハンス細胞」の記載以降、長くその存在を知られながら、その詳細な生物学的性質が知られるようになったのは、比較的最近のことである。移植片の拒絶に重要な抗原提示細胞として認識されながら、存在の局在性と特殊性、絶対数の少なさ故に独立した存在としての entity には未だに議論の有る所である。細胞免疫学、特にフローサイトメトリーの発達により細胞性質の決定や単離が容易になった 1970 年代に Steinmann と Cohn がマウス脾臓由来 DC を用いた研究を開始した時点から飛躍的にその研究が進むこととなった。

しかしながら、その研究の殆どはマウスにおけるものが主流であり、ヒトにおける DC の役割は未だに十分な理解のなされていない部分も多い。単球は高濃度のサイトカイン GM-CSF と IL-4 の存在下で、細胞表面形質・機能的には完全な DC に分化することが Tedder らの報告以降明らかになっており、このように *in vitro* でサイトカインにより誘導された DC が *in vivo* で働く DC と細胞学的に同一であるかは議論の余地の有る所であるが、マウスとは趣を異にし不明の点の多いヒトにおいて再構成系でその役割を追求した点は、この論文の評価されるべき点である。

従来インターロイキン 12 (以下 IL-12) は、DC などの抗原提示細胞から分泌され、主に脾臓などで T 細胞や NK 細胞に働き、Th1 ヘルパー細胞やキラー細胞を誘導されるサイトカインとして認識されていた。この研究の独自性は、DC 自身が IL-12 のレセプターを発現し、IL-12 が DC 自身に働く点と、細胞内情報伝達系下流のサイトカイン転写、とりわけこれまで T 細胞や NK 細胞から分泌されることが知られていた IFN- γ が DC から大量に分泌されることを明らかにした点で新規性、独自性に優れていると考えられる。

この研究はヒト末梢血単球由来 DC に関して以下の点を明らかにしている。

1. フローサイトメトリー解析により単球由来 DC が、T 細胞・Con A 芽球同様、細胞表面 IL-12 レセプター β 1 鎖蛋白を発現していることを明らかにしている。一方、単球には細胞表面 IL-12 レセプター β 1 鎖蛋白は発現が認められなかった。

[別紙 2]

2. IL-12 で刺激したヒト末梢血単球由来 DC から抽出した RNA を用いた RT-PCR 法で、単球由来 DC は、T 細胞・Con A 芽球同様、IL-12 レセプター $\beta 1$ 鎖と IL-12 レセプター $\beta 2$ 鎖 mRNA を発現していること示している。一方、単球には IL-12 レセプター $\beta 1$ 鎖 mRNA のみで、IL-12 レセプター $\beta 2$ 鎖 mRNA は発現が認められなかった。
3. ヒト末梢血単球由来 DC における IL-12 刺激の下流の現象として、GM-CSF, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , 及び IL-12p40 遺伝子転写が検出された。ただし、IL-12p35 の発現は低下していた。
4. IL-12 刺激ヒト末梢血単球由来 DC において、IFN- γ は培養上清を用いた ELISA 法でも蛋白レベルでの産生が確認された。
5. IL-12 刺激により単球由来 DC の細胞内チロシンリン酸化が濃度依存性に惹起され、その際のリン酸化蛋白は対照の ConA 芽球とはパターンが異なり、これら細胞内チロシンリン酸化は抗 IL-12 レセプター $\beta 1$ 鎖モノクローナル抗体で阻害された。
6. 単球由来 DC において IL-12 レセプター $\beta 1$ 鎖と会合する細胞内チロシンリン酸化蛋白として Jak ファミリーの Jak2, Tyk2, Stat ファミリーの Stat3, Stat4 が明らかになった。また IL-12 刺激でこれらチロシンリン酸化酵素・転写因子の活性化が惹起された。ただし残念ながらこの研究では、新しいシグナル伝達系を担う分子の同定には至っていない。T 細胞や NK 細胞とは異なる刺激伝達系の存在を示すことが出来ればこの研究は新規性と独自性の点でもっと優れたものになっていたと考えられ、審査委員一同の意見・指摘事項としては、残念なところである。
7. IFN- γ 産生の際に重要であるとされる p38^{mapk} の活性化が IL-12 刺激した単球由来 DC で認められた。

まとめると、これらの結果から免疫系における DC の役割について、内因性に IL-12 を産生すると同時に DC 自身も機能的 IL-12 レセプターを発現して複雑なサイトカインネットワークを構成しており、免疫系の恒常性維持と一次免疫反応の誘導に際し、重要な役割を果たすことが示唆される。本研究の評価すべき点として、IL-12 の標的として T 細胞や NK 細胞のみならず、ヒト末梢血単球由来 DC 自身が IL-12 のレセプターを発現し機能している点と、細胞内情報伝達系下流のサイトカイン転写、とりわけこれまで T 細胞や NK 細胞から分泌されることが知られていた IFN- γ が DC から大量に分泌されることを明らかにした点で新規性、独自性に優れている。

本研究が臨床に及ぼす意義として、ヒト末梢血単球由来 DC の機能的活性化が、悪性腫瘍を対象とした免疫療法において重要であることから、臨床応用における DC の機能的活性化の方法を示唆している点が有用であると考えられる。これ

[別紙2]

までの研究から悪性黒色腫を含む担癌患者では、樹状細胞による抗原提示能が低下し、宿主の悪性腫瘍に対する免疫学的寛容が成立していること、逆の立場からいえば悪性腫瘍の免疫学的サーベイランスからのエスケープ現象が明らかになっている。さらに最近の臨床研究で、IL-12 遺伝子導入 DC が抗腫瘍特異的免疫の誘導に有効であるとの知見が得られている。今後、DC による T 細胞の活性化と抗体産生に及ぼす影響を詳細に研究することで、DC を使った腫瘍ワクチン療法を含めて、免疫が関与する疾患への臨床応用と新たな可能性が切り開かれることが期待され、この研究は学位授与に値すると考えられる。