

[別紙 1]

## マウスランゲルハンス細胞における

### ケモカイン産生とその制御

指導教官 玉置邦彦教授  
外科学専攻 平成13年入学  
17495 藤田英樹

ケモカインは特定の白血球サブセットの遊走を主要な作用とするサイトカインの総称であり、その生理的機能面の特徴から、炎症性ケモカインおよび恒常性ケモカインに分類することができる。炎症性ケモカインは微生物感染や組織損傷といった生体にとっての緊急事態に対応して、好中球、単球、好酸球などを遊走して、主に急性炎症や慢性炎症に関与する。一方、恒常性ケモカインは特定の組織細胞で構成的に発現され、それによって主に恒常的な白血球の移動に関与しており、特にリンパ球や樹状細胞を遊走し、リンパ系組織の形成、維持および免疫応答に重要な役割を果たしている。エフェクターT細胞は産生するサイトカインの種類から、Th1とTh2に大別されるが、Th1細胞とTh2細胞の選択的な組織浸潤にはそれぞれ異なったケモカイン-ケモカインレセプターが関与していることが知られている。ケモカインレセプターの中でも特に、CXCR3はTh1細胞に特異的に発現し、CCR4はTh2細胞に特異的に発現する。よって、CXCR3を唯一の受容体とするCXCL10、CXCL9、CXCL11はTh1タイプケモカインとして、CCR4のリガンドであるCCL17、CCL22はTh2タイプケモカインと考えることができる。

ランゲルハンス細胞 (Langerhans cell; LC) は、皮膚の最外層である表皮全体の1~3%ほどを占め、外界からの抗原刺激を最初に受ける抗原提示細胞であり、樹状細胞 (dendritic cell; DC) の範疇に属する。皮膚が抗原に暴露されると、LCはそれを取り込んで表皮から真皮内のリンパ管に遊走し、所属リンパ節にてT細胞に抗原提示を行う。DCは定着している組織や表面マーカーの違いなどから様々なサブセットに分類されるが、LCもまた独立したサブセットであると考えられる。DCは重要なケモカイン産生細胞であり、末梢の炎症組織や二次リンパ組織において炎症細胞やT細胞などの集積に重要な役割を果たしている。またDCのサブセットの違いによりケモカイン産生パターンも異なることが報告されているが、LCのケモカイン産生に関する報告は非常に少なく、特にLCそのものからのケモカイン産生を *in vitro* で確認した報告はない。

本研究ではLCにおけるケモカインの産生能を詳細に検討するため、BALB/cマウス皮膚

から抗 MHC クラス II (I-A<sup>d</sup>) 抗体を用いたパンニング法により高純度 (95%以上) で多数の LC を単離し、そのケモカインの発現を網羅的に検討した。今回はケモカインの中でも特に DC での発現が知られている炎症性ケモカインに分類される CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9, CXCL10, CXCL11 および恒常性ケモカインに分類される CCL17, CCL22 に着目し、研究を行った。

はじめに、炎症性ケモカインである CCL3, CCL4, CCL5 の LC における発現とその制御を検討した。LC が実際に生理活性を有する CCL3, CCL4, CCL5 を産生することが明らかになった。これらの 3 種ケモカインは CCR5 をレセプターとして共有しているが、その産生の kinetics はかなり異なっていた。無刺激の培養で CCL3/4 は 6 時間後には上清中に検出されたが、CCL5 は最初の 24 時間ではほとんど産生されず、24 時間以降に大量に産生された。それらの産生制御については、CCL3, CCL4 は産生制御のパターンが非常に類似していたが、CCL5 産生制御パターンはそれらとはかなり異なっていた。例えば、GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13 は CCL3/4 の産生を促進したのに対して、CCL5 の産生は抑制した。また、細菌の菌体成分である *Staphylococcus aureus* Cowen 1 (SAC) や lipopolysaccharide (LPS) (特に SAC) が大量の CCL3/4 産生を誘導したが、CCL5 産生にはほとんど影響を与えなかった。これらの結果より LC から産生される CCL3/4 と CCL5 はかなり役割が異なる可能性が示唆された。

次に、ケモカインにおける Th1/Th2 という視点から、CXCL10, CXCL9, CXCL11 (Th1 タイプケモカイン)、CCL22, CCL17 (Th2 タイプケモカイン) の LC における発現と制御を splenic CD11c<sup>+</sup> DC との比較において検討した。Th1 タイプケモカインについては、LC および splenic DC の両者において CXCL10, CXCL9, CXCL11 のタンパクレベルでの産生には IFN- $\gamma$  などの外的な刺激が必要であった。さらに微生物由来分子である LPS や polyinosinic-polycytidylic acid も Th1 ケモカインの産生を誘導した。産生量については splenic DC のほうが多い傾向にあった。Th2 タイプケモカインについては、LC は無刺激の状態でも恒常的に CCL22, CCL17 を大量に産生していたが、splenic DC においては無刺激の状態ではこれらの産生は全く認められなかった。LC における CCL22, CCL17 産生はかなり複雑に制御されていたが、中でも IL-4 はそれらの産生を促進し、IFN- $\gamma$  は抑制した。また、炎症性の刺激により splenic DC においても CCL22, CCL17 産生が誘導されたが、今回検討したいかなる条件下においても産生量は LC の場合よりも少なかった。また、少なくとも LC より産生された Th1 タイプケモカインの CXCL10, CXCL9 および Th2 タイプケモカインの CCL22, CCL17 については実際に生理活性を有していることが、CXCR3 または CCR4 を強制発現させた 2B4 T 細胞を用いたケモタキシスアッセイにより示された。この結果よりケモカイン産生の点においても LC と splenic DC は異なった特性を有する細胞集団であることが明らかになった。特に外的な刺激を与えなくても培養により構成的に CCL22, CCL17 を多量に産生することが、splenic DC との比較の上での LC のケモカイン産生の特徴であると考えられた。

本研究ではLCが実際に生理活性を有するケモカインを産生しうることがin vitroにおいて示された。in vivoでのLCのCCL22, CCL17発現を示唆する複数の報告が存在するが、今回のin vitroでの観察はこれらに合致するものであった。しかし、これらはLCと他のDCを確実に区別したものではない。よって、今後LCが実際に本研究で産生の認められたケモカインをin vivoにおいて発現することを明らかにしていく必要がある。また、LCが産生するケモカインが皮膚免疫反応においてどのような役割を果たしているのかを解析することが皮膚の免疫機構の解明の一助になると考えられる。