

## 審査の結果の要旨

氏名 藤田英樹

本研究は表皮樹状細胞であるランゲルハンス細胞における特定の白血球サブセットの遊走を主要な作用とするケモカインの発現を明らかにするため、マウス皮膚より直接高純度で単離したランゲルハンス細胞を用いて、ケモカインの発現、産生及びその制御の機構の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 炎症性ケモカインである CCL3, CCL4, CCL5 が LC において mRNA および蛋白レベルで発現しており、さらに、CCR5 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る検討から、LC から分泌されたこれらのケモカインがいずれも実際に生理活性を有していることが示された。
2. 無刺激の培養で CCL3/4 は 6 時間後には上清中に検出されるのに対し、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、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 に相違があることが示された。様々な刺激による産生量の変化の解析により、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ることが示された。また、細菌の菌体成分である *Staphylococcus aureus* Cowen 1 や lipopolysaccharide (特に前者) 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。
3. LC における Th1 タイプケモカイン (CXCL10, CXCL9, CXCL11) のタンパクレベルでの産生には外的な刺激が必要であり、特に IFN- $\gamma$  や微生物由来分子などの限られた刺激のみで産生が誘導されることが示された。さらに、CXCR3 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る検討から、産生された Th1 タイプケモカインは少なくとも CXCL10, CXCL9 については実際に生理活性を有していることが示された。
4. LC は成熟に伴い恒常的に Th2 タイプケモカイン (CCL22, CCL17) を産生することが示された。CCR4 を強制発現させた 2B4 T 細胞を用いたケモタキシ

スアッセイによる検討から、LC 由来の CCL22, CCL17 が実際に生理活性を有していることが示された。LC における CCL22, CCL17 産生はかなり複雑に制御されており、中でも IL-4 はそれらの産生を促進し、IFN- $\gamma$  は抑制することが示された。

5. Th1 タイプケモカインおよび Th2 タイプケモカイン産生における LC と splenic DC の比較から、Th1 タイプケモカインについては LC は splenic DC よりも産生量が少ない傾向にあること、Th2 タイプケモカインについては LC は無刺激の状態も恒常的に 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いこと、炎症性の刺激により splenic DC においても CCL22, CCL17 産生が誘導されるものの、今回検討したいかなる条件下においても産生量は LC の場合よりも少ないことが明らかになり、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示された。

以上、本論文はマウスランゲルハンス細胞において、実際に生理活性を有する炎症性ケモカイン (CCL3, CCL4, CCL5)、Th1 タイプケモカイン (CXCL10, CXCL9)、Th2 タイプケモカイン (CCL22, CCL17) が産生されることを *in vitro* の系で明らかにし、さらにそれらの産生制御を明らかにした。本研究はこれまで樹状細胞の中でも解析が非常に遅れていたランゲルハンス細胞に焦点を当て、そのケモカイン産生の特徴につき解明した。このことは皮膚免疫機構全体の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。