

論文の内容の主旨

論文題目 **CC ケモカイン TARC (thymus and activation-regulated chemokine/CCL17)と皮膚疾患**

氏 名 柿沼 誉

ケモカインは主に白血球に対し走化性をもたらすサイトカインの総称である。TARC (thymus and activation-regulated chemokine/CCL17)はCCケモカインに属し、CCR4 (CC chemokine receptor 4)のリガンドの1つとして知られる。このCCR4はIFN- γ (interferon-gamma)よりもIL-4 (interleukin-4)を優位に産生するいわゆるTh2細胞に発現することから、TARCはTh2優位の病態に関与するのではないかと推察されてきた。以前我々のグループではアトピー性皮膚炎(AD)のモデルマウスとされているNC/Ngaマウスを用いて、病変部皮膚でのTARCの発現を検討した。その結果TARCは病変部表皮に強く発現し、TARCのreceptorであるCCR4陽性T細胞の多数の真皮内浸潤を認めた。更に治療により皮疹が軽快するとTARCの発現が減弱し、NC/Ngaマウスの皮膚病変形成にはTARCが重要な役割を果たすことが分かった。このことは、ヒトADにおいてもTARCが病変形成、更には病態に重要な働きをするのではないかと考えられた。ADは血液学的に末梢血好酸球数増多、血清IgE値上昇をきたすが、同様の血液学的データをしば

しば示す皮膚疾患として自己免疫性水疱症である水疱性類天疱瘡(BP)、皮膚 T 細胞リンパ腫である菌状息肉症(MF)が知られている。今回の研究では AD、BP、MF の 3 疾患において、TARC の血清学的、病理組織学的な評価を行い、また TARC の receptor である CCR4、CCR4 とは逆に interferon- γ を優位に産生するいわゆる Th1 細胞に発現するとされる CXCR3 (CXC chemokine receptor 3) の発現もあわせて検討した。まず AD における TARC であるが、AD 患者群の血清 TARC 値は 2338.7 ± 302.8 pg/mL であり健常人(HC)群の 215.3 ± 26.8 pg/mL、尋常性乾癬(Ps)患者群の 256.3 ± 25.3 pg/mL と比較し有意に高値であった (それぞれ $p < 0.001$)。また、臨床的重症度別での血清 TARC 値は軽症群 540.8 ± 111.6 pg/mL、中等症群 2056.2 ± 290.3 pg/mL、重症群 4812.0 ± 490.7 pg/mL であり、より重症になるに従い血清 TARC 値は高値を示した。治療前後での血清 TARC 値は、治療前 2952.6 ± 731.7 pg/mL であったのが治療により皮疹が改善すると 783.1 ± 84.9 pg/mL と有意に低下した。また血清 TARC 値と AD の病勢を示すデータとの相関を検討したところ、SCORAD、血清 sE-selectin 値、末梢血好酸球数、血清 IgE 値、血清 sIL-2R 値との間にいずれも有意な正の相関を認めた。このことから血清 TARC 値は AD の病勢を反映することが明らかとなった。次に TARC の発現について免疫組織学的に検討した。AD では急性期、慢性期いずれにおいても TARC は表皮細胞に強く陽性を示し、一方 Ps 病変部では表皮細胞は弱い陽性所見を示し、健常人皮膚では表皮細胞は陰性であった。また真皮中では TARC は炎症細胞の一部に弱く陽性を示したが、これらの細胞は CD4 陽性 T 細胞、CD1a 陽性真皮樹状細胞であった。更に TARC のレセプターである CCR4 の末梢血 T 細胞における発現を検討するため、AD 患者群、Ps 患者群、健常人群より各々 10 名について PBMC 中の CD4⁺CD45RO⁺ T 細胞 (CD4⁺メモリー T 細胞) における CCR4 の発現率をフローサイトメトリーにて解析した。AD 患者群では $25.6 \pm 6.1\%$ であり、Ps 患者群の $3.7 \pm 2.0\%$ 、健常人群の $5.2 \pm 1.1\%$ と比較し有意に高率に CCR4 を発現していた (それぞれ $p < 0.002$ 、 $p < 0.004$)。

次に BP における TARC であるが、BP 患者群の血清中 TARC 値は 1151.5 ± 885.6 pg/mL であり、健常人群の 196.6 ± 129.7 pg/mL、尋常性天疱瘡患者群 270.0 ± 112.5 pg/mL と比較しそれぞれ有意に高値であった (それぞれ $p < 0.002$)。更に治療により皮膚症状の改善した 5 例において血清 TARC 値を比較検討したところ治療前 2200.0 ± 1364.5 pg/mL であったのが治療後 524.2 ± 395.6 pg/mL と有意に低下した ($p < 0.01$)。また BP 水疱内容液中 TARC 値は 4258.0 ± 1865.1 pg/mL であり、熱傷

患者群からの水疱内容液中 TARC 値の 43.3 ± 6.9 pg/mL、健常人群からの吸引水疱内容液中 TARC 値の 64.5 ± 28.7 pg/mL と比較し有意に高値を示した（それぞれ $p < 0.001$ ）。次に測定した血清 TARC 値と BP の病勢をよく反映すると報告されている末梢血好酸球数との相関を比較検討したところ、これら 2 群間には有意な相関を認め、BP においても血清 TARC 値が病勢を反映することが示された。抗 TARC 抗体を用いた免疫組織染色において、TARC は病変部表皮細胞に強く発現していた。一方、健常人皮膚の表皮細胞においては TARC の発現は認められなかった。抗 CCR4 抗体および抗 CXCR3 抗体を用いた BP 病変部の免疫組織染色では、水疱部直下の真皮上層に CCR4 陽性細胞が多数認められ、CXCR3 陽性細胞も同様に認められた。更に TARC のレセプターである CCR4 の末梢血 T 細胞における発現を検討するため、PBMC 中の $CD4^+CD45RO^+$ T 細胞（ $CD4^+$ メモリー T 細胞）における CCR4、CXCR3 の発現率をフローサイトメトリーにて解析した。CCR4 の発現率は BP 患者群では $15.0 \pm 2.7\%$ であり健常人群の $5.2 \pm 1.8\%$ と比較し有意に高率に CCR4 を発現していた（ $p < 0.03$ ）。一方、CXCR3 の発現率は BP 患者群では $29.2 \pm 2.1\%$ に対し健常人群では $24.5 \pm 3.5\%$ であり、両者の間には有意な相関は認められなかった。

最後に MF における TARC であるが、MF 患者群における血清 TARC 値は 2889.6 ± 725.5 pg/mL であり、健常人群の 318.9 ± 36.0 pg/mL、Ps 群の 298.2 ± 45.2 pg/mL と比較し有意に高値であった（それぞれ $P < 0.001$ ）。次に MF 患者 20 人における各病期別での血清 TARC 値を比較検討した。紅斑期の血清 TARC 値は 546.3 ± 149.5 pg/mL、扁平浸潤期では 2208.9 ± 701.7 pg/mL、腫瘍期では 7591.8 ± 1008.2 pg/mL であり、いずれにおいても健常人群と比較し有意に高値であったが、特に腫瘍期群において顕著であった（健常人群対紅斑期群： $p < 0.05$ 、健常人群対扁平浸潤期群： $p < 0.001$ 、健常人群対腫瘍期群： $p < 0.001$ ）。また、紅斑期、扁平浸潤期、腫瘍期の 3 群間においても有意差が認められた（紅斑期群対扁平浸潤期群： $p < 0.001$ 、扁平浸潤期群対腫瘍期群： $p < 0.006$ ）。MF 患者群での血清 TARC 値を血清 LDH 値、血清 sIL-2R 値、血清 IgE 値、および末梢血好酸球数と比較検討した。血清 TARC 値は血清 LDH 値、血清 sIL-2R 値、血清 IgE 値との間に有意な相関を認めたが、末梢血好酸球数との間には有意な相関は認められなかった。抗 TARC 抗体を用いた MF 患者の免疫組織学的検討では、TARC は紅斑期、扁平浸潤期、腫瘍期ともに病変部表皮細胞に強い発現が認められた。更に腫瘍期では真皮中の血管内皮細胞にも中等度発現が認められた。しかし、腫瘍細胞には

TARC の発現はみられなかった。また、健常人皮膚の表皮細胞においては TARC の発現は表皮基底層にのみ認められた。更に抗 CCR4 抗体および抗 CXCR3 抗体を用いた MF 病変部の免疫組織染色では、紅斑期、扁平浸潤期においては、表皮内に浸潤しいわゆる微小膿瘍を形成する腫瘍細胞に CCR4 あるいは CXCR3 陽性細胞がいずれも同程度認められた。一方、真皮中に浸潤した細胞のほとんどは CXCR3 陽性細胞であった。腫瘍期においては、浸潤細胞は真皮中に多数認められ、多数の大型の腫瘍細胞と一部の小型の浸潤細胞において CCR4 が強く発現していた。一方、CXCR3 は小型の浸潤細胞のみに発現が認められた。

以上より上記 3 疾患において血清 TARC 値は病勢を反映する新しい指標となることが明らかとなり、今後臨床の場での重症度評価として有用な検査となりうることを期待される。また皮膚病変の形成には表皮細胞から産生される TARC が重要であると考えられ、今後 TARC 産生のシグナル機構を解明することにより皮膚疾患の治療へも応用できることが期待される。