

## 審査の結果の要旨

氏名 隈本 洋介

「接触過敏症を誘導する抗原提示細胞は表皮ランゲルハンス細胞ではなく真皮樹状細胞である」と題する本論文は、マウスを材料に MGL2/CD301b の発現に基づいて真皮樹状細胞を同定し、その接触過敏症における役割を明らかにした結果を述べたものである。全体は「序論」、「接触過敏症を開始させる抗原提示細胞は表皮 LC ではなく真皮の MGL2+DDC である」、「MGL はリンパ節に複数の内因性異リガンドをもつが MGL1 は DDC の細胞交通に必要でない」、及び「結論」の4章から成る。

樹状細胞(DC)は一次免疫応答において最も強力な抗原提示能をもつ細胞群と考えられており、多くの亜集団が知られている。低分子化合物が皮膚に付着することで生じる接触過敏症は、経皮感作による免疫応答モデルとしてよく利用され、マウスを対象に FITC 等のハプテンを用いるモデルが多用される。接触過敏症の感作過程において表皮特異的な DC 亜集団である LC が所属リンパ節へと遊走すること、また *in vitro* でハプテンと共培養した表皮由来 LC の受動移入により CHS を誘導できることなどから、古典的に LC が接触過敏症における抗原提示細胞であるとされてきた。しかし、近年 LC 特異的な細胞表面分子として langerin (CD207)が同定され、*langerin* プロモーターを用いて遺伝子工学的に *in vivo* で LC を除去したマウスが複数のグループにより作製されたが、これらのマウスで接触過敏症の発症が認められたことから接触過敏症の感作過程には LC 以外の DC 亜集団が抗原提示細胞として機能する可能性が指摘された。経皮的に侵入した抗原を提示する DC 亜集団の候補である真皮樹状細胞(DDC)には現在特異的なマーカー分子が知られておらず、*in vivo* における DDC の機能を直接的に証明した例はなかった。本論文では、マウスにおいて同定されたマクロファージガラクトース型 C 型レクチン(MGL)の一つである MGL2 が DDC 特異的に発現することを発見し、これを指標として接触過敏症の経皮感作過程における DDC の動態と機能を明らかにした。

学位申請者は伝田らによって新規に作製された MGL2 特異的モノクローナル抗体(mAb) URA-1 および MGL1 特異的 mAb LOM-8.7 を用いて皮膚及びリンパ節において MGL 陽性細胞がどの亜集団に帰属されるのかを検討した。皮膚では MGL1 と MGL2 は共に真皮にのみ発現が認められ、いずれも MHC class II 高発現の DDC 様細胞集団に限局していた。皮下リンパ節では、MGL1 が髄洞、辺縁洞および皮質 T 細胞領域の外側に発現するのに対し、MGL2 は主に皮質 T 細胞領域の外側に限局して発現が認められた。皮下リンパ節において MGL2 陽性細胞が MGL1 陽性細胞の亜集団であることが推定された。フローサイトメトリーによって、MGL1 陽性の細胞集団には MHC class II および CD11c 低発現かつ B220 および Gr-1 陽性の形質細胞様 DC と、CD8a 低発現かつ CD11c および CD11b 陽性かつ MHC class II 高発現の間質性 DC が含まれるが、MGL2 陽性の細胞集団は間質性

DCのみから成ることが明らかになった。以上から、リンパ節の間質性DCはDDC由来であり、MGL2がDDC亜集団のマーカーとして利用できることが強く示唆された。そこで続いて、皮下リンパ節のCD11c陽性DCをフローサイトメトリーで各種のマーカーの発現に関して解析し、MGL2陽性DDCがどの用な性質を持つ細胞集団であるかを調べた。CD40とCD11cの発現による分類では、これまでの報告で皮下リンパ節に特有とされているCD40中発現かつCD11c高発現、CD40高発現かつCD11c中発現、CD40高発現かつCD11c高発現の3種類のDC亜集団が検出された。このうちCD40高発現かつCD11c高発現の亜集団がMGL2陽性DDCと一致した。同様に、MGL2陽性DDCはCD86高発現かつCD8a低発現のほぼ均一なDC亜集団であることが示された。すなわち、MGL2をマーカーとして用いることで皮下リンパ節のCD40高発現かつCD86高発現かつCD11c高発現の細胞のほぼ全てが真皮から遊走した細胞であることが強く示唆された。リンパ節のMGL2陽性DDCに共刺激分子が高発現していることは、これまでLCが中心的な役割を果たすと考えられていた接触過敏症等の皮膚における免疫応答において、DDCが抗原提示細胞として機能する可能性を強く示唆した。

FITCによる接触過敏症感作時のDDCの動態をMGL2をマーカーとして観察したところ、MGL2陽性DDCは未感作のリンパ節でCD11c陽性DCの約10%を占め、FITC感作1日後には約50%となり、感作4日後で再び約10%に減少することが分かった。このことから、一般に5日程度かかると思われる接触過敏症感作過程において、MGL2陽性DDCが感作後24時間という比較的早期にリンパ節へ遊走することが示唆された。未感作、感作1日後および感作4日後の所属リンパ節においてMGL2陽性DDCの分布を組織学的にLCと比較すると、全ての時点でDDCがT細胞領域とB細胞濾胞の境界に存在する高内皮静脈の近傍に集中的に分布していたのに対し、LCはT細胞領域全体に分散して存在した。従って、皮膚から皮下リンパ節へのリンパ管経由と考えられるLCとDDCの遊走が、異なる機構により制御されていることが示唆された。接触過敏症感作におけるMGL2陽性DDCの重要性を直接証明するため、FITC感作1日後のリンパ節からFITCを捕捉したMGL2陽性DDCを精製し、未感作のマウスに受動移入した。受動移入6日後にマウス耳介にFITC溶液を塗布し、その24時間後の耳介の厚さを測定した結果、耳介の腫脹が確認された。すなわち、FITC感作1日後のLNに存在するMGL陽性DDCが接触過敏症を誘導できることが示された。以上の結果から、CHSにおいては、感作後24時間以内にHEVの近傍で、DDCによって抗原が提示されることが明らかとなった。

本研究において学位申請者は、CHSの感作過程に於ける細胞動態をMGL2をマーカーとして詳細に解析し、DDCがLCよりも初期に接触過敏症を誘導することを明らかにした。LCが主要な抗原提示細胞であるという従来の接触過敏症感作の概念を覆す発見であり免疫学的な意義が大きい。従って、本研究を行った 隈本洋介 は博士(薬学)の学位を得るにふさわしいと判断した。