

論文内容の要旨

Differentiation of Langerhans cells from monocytes and  
their specific function in inducing IL-22-specific Th cells

末梢血単球を用いたランゲルハンス細胞の誘導と IL-22 産生特異的 T 細胞の解析

日本医科大学大学院医学研究科 微生物学・免疫学分野

大学院生 大塚 洋平

*The Journal of Immunology* (2018) 掲載予定

ヒト皮膚には基底膜を境として2つの異なる樹状細胞サブセット群、即ち Langerhans cell (LC)と樹状細胞 (dendritic cells : DC) とが存在している。最外側に位置する表皮 (epidermis) には LC が、また基底膜を超えた下方には DC が存在し、両者の共同作業によって皮膚の恒常性が制御されている。またこれらサブセット上には、特徴的な c-type lectin receptor が発現しており、その発現の差異によっても両者を区別することができる。LC は外界から侵入してきた抗原や病原体を捕捉し細胞内に取り込む Langerin を発現しているのに対し、DC は HIV などの病原体を捕捉しリンパ組織に運ぶ DC-SIGN (DC-specific ICAM-3 grabbing non-integrin)を発現している。これまでの知見によれば、ヒト末梢血単球 (PBMo)は GM-CSF、IL-4 存在下で6日間培養すると DC (moDC)に分化すること、GM-CSF、IL-4、TGF- $\beta$  存在下で培養することで LC 様細胞に分化することが知られていた。しかしながら、この LC 様細胞は Langerin のみならず DC-SIGN 双方を発現してしまう問題点を含んでいた。今回申請者らは、GM-CSF と TGF- $\beta$  存在下に IL-4 を培養開始後 48 時間と短期間作用させた場合、DC-SIGN の発現が著明に減少した moLC が誘導されることを見出だした。また、48 時間以上の持続的な IL-4 暴露は LC 分化を抑制し DC への分化を誘発することも明らかになった。さらに培養開始時よりステロイドホルモンである dexamethasone (Dex)と TNF- $\alpha$  を加えた場合、DC-SIGN の発現が抑制され急速に LC へ分化することを観察し、この細胞を Dex-TNF- $\alpha$ -induced moLCs と命名した。この Dex-TNF- $\alpha$ -induced moLCs とヒト皮膚より分離採取した LC (primary LC)との性状を比較したところ、Langerin の明らかな発現が認められ DC-SIGN の発現は低下していた。さらにこれら LC および primary LC ならびに moDC において、樹状細胞サブセットに特有な CD1 分子群の発現を比較検討したところ、moDC には CD1a、CD1b、CD1c、CD1d 全ての CD1 分子群が発現していたが、DC-SIGN の発現が減少した moLC では primary LC と同様 CD1b、CD1c、CD1d 分子の発現が低下し

ていた。そこで、moLC 及び moDC をそれぞれに対する固有の脂質リガンドであるスクアレン(CD1a)、ミコール酸 (CD1b)、 $\alpha$ -GalCer (CD1d)を用いて刺激したところ、moLC はどの脂質リガンドで刺激した場合でも活性化されなかった。これに対し、moDC はミコール酸の刺激により炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  及び IL-12p40 を、 $\alpha$ -GalCer の刺激により IL-12p40 を産生した。CD1a 分子を発現した moLC は、どのような刺激によっても独自に炎症性サイトカインを産生することはなかったが、スクアレン存在下に naïve T 細胞と共培養を行った場合、組織修復に必須なサイトカインである IL-22 の産生が確認された。

以上本研究は、表皮内 primary LCs に酷似した Langerin 陽性 DC-SIGN 陰性細胞を、PBMo から効率よく誘導するための新たな方法を提示するとともに、LC が細胞上に発現している CD1a 分子が自己脂質抗原を naïve T 細胞に提示し IL-22 産生 T 細胞への分化を誘導することを実験的に明らかにした。以上より、表皮内 LC は皮膚修復や皮膚の恒常性維持に重要な IL-22 の産生をその表面に発現した CD1a 分子を介し担っていること、真皮の DC は炎症性サイトカインの産生により腫瘍細胞や侵入した病原体を制御する実態が明らかとなった。皮膚基底膜を境として分布する LC と DC の糖脂質抗原に対する反応性の違いを明らかにした本研究の成果は、これら細胞の皮膚免疫における役割や機能を解明する上で有用な知見を提示するものと考えられる。