

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	田 中 淳 也
論文題目	Human TSLP and TLR3 ligands promote differentiation of Th17 cells with a central memory phenotype under Th2-polarizing conditions (Th2 型免疫応答に傾いた状況下においても、ヒト TSLP と Toll 様受容体 3 リガンドの協調作用によりセントラルメモリーT 細胞の表現型を持った Th17 細胞への分化が誘導される)		
(論文内容の要旨)			
【背景】 thymic stromal lymphopoietin (TSLP)は、粘膜上皮細胞等から分泌されるサイトカインであり、その受容体は樹状細胞に高発現しており、アレルギー疾患の病態形成に深く関わっていることが示唆されている。TSLP は、気管支喘息の病態において、Th2 型免疫応答の誘導をもたらす病態発症に関わっていることが示唆されているが、その役割についてはまだ不明な点も多い。また、粘膜免疫組織を有する消化管粘膜における TSLP の役割については、特にヒトでの疾患との関連は十分に明らかではない。 【目的】 今回申請者らは、TSLP の粘膜免疫での役割、特にヒトの炎症性疾患での病態への関与について解析を行った。1) まず、粘膜炎症性疾患の中で TSLP の解析が進んでいる喘息の病態における TSLP の役割をさらに追求する目的で、特にウィルス由来二本鎖 RNA の受容体である Toll 様受容体(TLR)3 が、TSLP を分泌する粘膜上皮細胞と、TSLP によって活性化される樹状細胞の双方に発現している点に着目して解析を行った。2) また、TSLP の役割がまだ明らかではない消化管粘膜疾患においては、その関与が示唆される疾患の同定と、どのような刺激によって消化管粘膜上皮から TSLP の発現誘導がおこるのか検討を行った。 【方法】 1) 骨髄系樹状細胞をヒト末梢血より分離し、各種 TLR リガントと TSLP の刺激下で培養し、活性化した樹状細胞に発現する膜分子、分泌するサイトカイン、ケモカインを qRT-PCR、ELISA、フローサイトメトリー法を用いて解析した。さらに活性化樹状細胞を同種 naïve CD4 陽性 T 細胞との共培養系にて培養し、T 細胞に発現する分化関連分子、分泌サイトカインを qRT-PCR、ELISA、フローサイトメトリー法を用いて解析した。2) また、炎症性腸疾患患者組織サンプルでの TSLP を含むサイトカイン発現を、qRT-PCR、免疫組織染色を用いて解析し、さらに大腸上皮細胞株 Caco2 を用いて、TSLP を発現誘導する刺激分子の探索を行った。 【結果】 1) TLR リガンドのうち TLR3 リガンドである poly(I:C)のみが、TSLP との共刺激において、樹状細胞上の TLR3、TSLP レセプターの発現を相乗的に増強した。さらに、TSLP+poly(I:C)刺激によって、活性化樹状細胞から TSLP 単独では認められない IL-23 の分泌が誘導された。そして、この樹状細胞との共培養にて CD4 陽性 T 細胞は、セントラルメモリーT 細胞の表現型をもち、炎症性 Th2 サイトカインのみならず Th17 サイトカインをも分泌する細胞へと分化誘導された。2) 炎症性腸疾患のなかで、潰瘍性大腸炎において、炎症組織で TSLP 発現が増強しており、TNF-αや IL-4 の発現上昇を伴っていた。大腸粘膜上皮における解析では、TSLP の発現が TNF-α+IL-4 刺激によって誘導された。また、TNF-α +IL-4 刺激による上皮からの TSLP 発現誘導は、TLR3 リガンドである poly(I:C)刺激の添加にてさらに増強された。 【結論】 1) 上記の結果から、ウィルス感染時に TLR3 リガンドが、粘膜上皮を刺激して TSLP の分泌を誘導するのみならず、TSLP との協調作用にて、DC の活性化を介した Th17 細胞への分化誘導もおこしうることが明らかとなった。2) また、Th2 型炎症サイトカインが優位に発現している潰瘍性大腸炎の病態において、			

Th2 型炎症サイトカイン自体によって TSLP の分泌誘導がおこり、さらにウイルス感染などを介して病態の悪化が生じる可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

サイトカインである thymic stromal lymphopoietin (TSLP) は、粘膜上皮細胞から分泌され、その受容体は樹状細胞に高発現している。TSLP は Th2 型免疫応答を誘導し、気管支喘息などの病態への関与が示唆されているが、その役割についてはまだ不明な点が多い。また、消化管粘膜における TSLP の役割についても疾患との関連性は十分に明らかではない。そこで、ヒト粘膜組織サンプル、末梢血から精製した免疫担当細胞、粘膜上皮細胞株を用いて、Th2 関連の粘膜炎症性疾患での TSLP の役割を検証した。消化管粘膜では、IL-4 や TNF- α の発現上昇を伴う潰瘍性大腸炎の炎症粘膜組織で TSLP の発現が増強していた。大腸上皮細胞株を、IL-4 と TNF- α にて共刺激すると TSLP の発現が誘導された。そして、Toll 様受容体 (TLR) 3 はウイルス由来二本鎖 RNA の受容体であるが、そのリガンド (poly(I:C)) の添加にて TSLP 発現はさらに増強された。TLR3 は粘膜上皮細胞のみならず樹状細胞にも発現しており、poly(I:C) と TSLP との共刺激にて、樹状細胞上の TLR3、TSLP レセプターの発現が相乗的に増強され、TSLP 単独刺激では認められない IL-23 の分泌が誘導された。さらに、この樹状細胞との共培養にて、CD4 陽性 T 細胞は炎症性 Th2 サイトカインのみならず Th17 サイトカインをも分泌する T 細胞へと分化し、TSLP が TLR3 リガンドとの協調作用にて、Th2 のみならず Th17 分化誘導をもたらす粘膜炎症性疾患の病態に関与することが示唆された。

以上の研究は粘膜免疫疾患の病態解明に貢献し、広く粘膜免疫応答機構に関する理解を深めるのに寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものとみとめる。なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 1 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。