

氏 名 やま ぐち やす のり
山 口 泰 範
学位(専攻分野) 博 士 (理 学)
学 位 記 番 号 論 理 博 第 1347 号
学位授与の日付 平 成 10 年 11 月 24 日
学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目 Studies on the regulation of dendritic cell differentiation and maturation
(樹状細胞の分化・成熟の調節に関する研究)

(主査)

論文調査委員 教 授 米 井 脩 治 教 授 佐 藤 矩 行 教 授 堀 道 雄

論 文 内 容 の 要 旨

樹状細胞はT細胞依存性の免疫応答において最も強力な抗原提示細胞であることが知られている。この樹状細胞は生体内の分布域から以下の3つのグループに分けられる。それらは1) 表皮や粘膜固有層のランゲルハンス細胞や肺、肝臓、心臓などの非リンパ組織にみられる間質細胞、2) 輸入リンパ中にみられるヴェール細胞、そして3) 末梢リンパ組織のT細胞領域や胸腺の髄質にみられる相互連結性細胞である。最近の研究によりこれらは、一連の分化ならびに移動の過程にある細胞であることが明らかとなってきた。即ち、非リンパ組織に分布する樹状細胞は未成熟であり、抗原の捕食や消化分解能は高いがT細胞活性化能は低い。しかしこれら未成熟樹状細胞は、ハクテリア産物、ウイルス、局所で産生される炎症性サイトカインなどの刺激を受けると食作用能を低下させると同時にT細胞活性化に必要なMHC分子、CD40、CD54、CD80、CD86などの接着・共刺激分子の発現量を増し、非リンパ組織を離れ、輸入リンパを経て二次リンパ組織のT細胞領域へと移動する。その結果、リンパ組織を再循環する未感作T細胞のうち抗原特異的な細胞を効率よく活性化する。このような樹状細胞の性状の変化は細胞の成熟を反映するものである。樹状細胞は造血幹細胞に由来する白血球細胞の一種であり、近年マウス骨髓細胞を用いた培養系に顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)を添加することにより増殖分化が誘導されることが明らかになっている。生体内においては、種々の液性因子(サイトカイン)が存在しており、それらが前駆細胞からの樹状細胞の分化および成熟に対して作用していることは容易に推測されるが、その詳細は明かではない。申請者はこの点に注目し、樹状細胞の増殖分化と性状の変化における種々のサイトカインの作用を検討した。

第一部では、リンパ球の分化と活性化を抑制することが知られているTGF- β 1の作用を、GM-CSF添加培養時におけるマウス骨髓前駆細胞からの樹状細胞の分化成熟に対する作用を調べた。その結果、TGF- β 1は分化決定を阻害する作用は無いが、TGF- β 1存在下で分化誘導される樹状細胞はT細胞活性化能が低い未熟な性状を示していることを明らかにし、その作用は樹状細胞と共に分化してくる大型のFc受容体(FcR)陽性マクロファージに依存することを示した。しかし、このような抑制性マクロファージもFcRを介する刺激により活性化されると、樹状細胞の成熟を促進する作用をもつことも明らかにし、樹状細胞の分化・成熟において正負両方の作用を及ぼしうることを示した。一方、TNF- α が樹状細胞の成熟を促進することを示すと同時に、この炎症性サイトカインによる樹状細胞の過成熟をTGF- β 1が制御し、MHCクラスII分子の消失を防ぐ作用をもつことも明らかにした。

第二部では、IL-4、IL-6、IL-10の骨髓由来樹状細胞とランゲルハンス細胞の分化・成熟における影響をTGF- β 1の作用と併せて比較検討している。IL-6、IL-10はGM-CSFによる骨髓由来樹状細胞の成熟を抑制したが、IL-4はむしろ促進的であった。また、TNF- α による樹状細胞の初期成熟誘導に対しては、何れのサイトカインも影響を与えなかったが、過成熟は抑制した。一方、生体内において未成熟樹状細胞の典型とされるランゲルハンス細胞の培養過程での成熟誘導に対して、IL-6、IL-10は用量依存的にCD80、CD86の発現を抑制したことから、ランゲルハンス細胞の成熟に負の作用を及ぼすことが明らかになった。さらに、骨髓由来樹状細胞の場合とは異なりTGF- β 1はむしろランゲルハンス細胞の成熟を促進

する傾向を認めた。また、蛋白抗原特異的Th 1 クローンの活性化を指標としたランゲルハンス細胞の抗原提示機能は、IL-6 による影響を受けなかったが、IL-10によって僅かに抑制された。このような結果は、種々のサイトカインは樹状細胞の分化・成熟過程の異なる段階に作用し、抗原提示細胞としての機能の調節に関与することを示すものである。

論文審査の結果の要旨

本研究は、樹状細胞の分化・成熟誘導過程における種々のサイトカインの影響を検討したものである。骨髄前駆細胞からのGM-CSFによる樹状細胞の分化・成熟においてTGF- β 1 は樹状細胞への分化決定を阻害することなく成熟過程のみを抑制すること、その際抑制効果をになっているのは同時に分化してくるマクロファージであることを明らかにした。また抑制効果を担うマクロファージもFcRからの刺激を受けると樹状細胞の成熟を促進することを示した。さらにTNF- α による過成熟が樹状細胞の成熟過程に存在することを示し、TGF- β 1 は成熟の中間段階に直接作用して抑制することも見出した。このような第一部での知見を基に第二部では、TGF- β 1 を含む種々のサイトカインの影響を同様の系で検討しており、IL-6, IL-10の抑制効果およびIL-4 の促進効果を示した。これらサイトカインの影響はさらにTNF- α による樹状細胞の後期成熟および過成熟過程においても検討された。それぞれのサイトカインの作用の違いについては論文中で議論されている。さらに非リンパ組織に存在する樹状細胞の代表として皮膚表皮ランゲル細胞の成熟過程におけるサイトカインの影響を骨髄前駆細胞由来樹状細胞と比較している。IL-6, IL-10は同様にランゲルハンス細胞の細胞表面分子発現を指標にした成熟を抑制するが、タンパク抗原のTb 1 細胞への抗原提示能に対して両者のサイトカインで差が認められること、骨髄前駆細胞由来樹状細胞への影響とは異なりTGF- β 1 はランゲルハンス細胞の成熟に促進的に働くことを示し、興味深い知見を提供している。

申請者の研究では抗原提示細胞として必須である樹状細胞の分化・成熟における種々のサイトカインの影響を前駆細胞からの樹状細胞への分化決定とその後の成熟過程を分けて詳細に検討し、同時に分化してくるマクロファージの調節的役割を明らかにし、さらに成熟過程においては非リンパ組織に存在するランゲルハンス細胞と相互に比較検討している点で有用な知見を提供している。また、これらの知見は、樹状細胞が免疫応答の誘導において必須であることを考慮すると、通常の免疫応答のみならず、自己免疫疾患、アレルギー疾患、移植拒絶反応の理解および制御を考える上で重要な意味を持つと思われる。

しかし、樹状細胞の異なる発達段階におけるそれぞれのサイトカインの作用の違いがどのような分子機構によるものであるのかを詳細に検討すること、またin vivoの免疫応答におけるそれぞれのサイトカインの役割との関連付けを行うことが樹状細胞の分化・成熟の免疫応答における影響の理解にとって重要であり今後の課題である。しかしながら樹状細胞系譜の分化・成熟に関する研究は緒についたばかりで未だに決定的なメカニズムは明らかでなく本研究は重要な知見を提供しており、その意味で高く評価出来る。

以上、論文の審査と申請者との論議の結果から、審査委員会は申請者が本専攻の学位審査基準を十分に満たしているものと判定した。