

学 位 論 文 題 名

Cytokine-Mediated Communication Between Dendritic
Epidermal T Cells and Langerhans Cells, In Vitro
Studies Using Cell Lines.

(樹状上皮T細胞とランゲルハンス細胞のサイトカインを
介した相互作用, 細胞株を用いた in vitro における研究)

学位論文内容の要旨

マウスの表皮には二種類の白血球分画由来の細胞が存在する。樹状細胞に属するランゲルハンス細胞と $\gamma\delta$ T細胞に属する樹状上皮T細胞である。ランゲルハンス細胞は抗原を介した $\alpha\beta$ T細胞の活性化に関与しており、樹状上皮T細胞はMHC非依存的にある特定の腫瘍細胞を殺す能力を持っていることが知られている。生体ではこれらの細胞は近接して存在するにも関わらず、ランゲルハンス細胞と樹状上皮T細胞が互いの機能にどのような影響を与え合っているのかということに関しては知られていない。そこで我々は樹状細胞株XS52と樹状上皮T細胞株7-17を用いてこれらの細胞の相互作用について検討した。

XS52と7-17を共培養すると、どちらか単独で培養した時よりも増殖反応が増大した。XS52は γ 線を照射した7-17と共培養すると増殖反応が増大したが、7-17は γ 線を照射したXS52と共培養しても増殖反応は増大しなかった。XS52は抗CD3抗体あるいはコンカナバリンAで刺激した7-17の培養上清を加えることによって増殖反応が増大し、無刺激の7-17培養上清に対しては反応しなかった。XS52は抗CD3抗体で刺激した脾臓由来T細胞の培養上清を加えても増殖反応は増大しなかったが、この系に抗インターフェロン γ 抗体を加えると増殖反応が増大した。よって、7-17によるXS52の増殖反応は樹状上皮T細胞特異的な反応ではないと考えられた。

次に我々は7-17によるXS52の増殖反応において、どのような因子が関与しているのかについて検討した。GM-CSFとCSF-1はXS52の増殖因子として既に同定されていたので、まずこれらのサイトカインについて検討した。7-17あるいは7-

17の培養上清によるXS52の増殖反応は抗GM-CSF抗体あるいは抗CSF-1受容体抗体によって部分的（70%まで）に抑制され、両抗体によってほぼ完全（90%まで）に抑制された。よって、7-17によるXS52の増殖反応は主にGM-CSFとCSF-1（あるいはCSF-1と受容体を共有する他の増殖因子）によるものであると考えられた。その他にXS52の増殖反応をひきおこす可能性のある因子を同定するため、28の異なったサイトカインを用いてXS52の増殖反応を調べたところ、GM-CSF、CSF-1、IL-4とIL-13のみが有意な増殖反応を起こした。しかし、抗IL-4抗体は7-17の培養上清によるXS52の増殖反応を抑制せず、またIL-4は7-17の培養上清には存在しなかった。IL-13に関しては、抗体が手に入らず検討できなかった。よって我々は、GM-CSFとCSF-1（可能性としてIL-13も）が7-17によるXS52の増殖反応に関与していると結論した。

これらの結果から7-17が抗CD3抗体あるいはコンカナバリンAによってだけではなく、XS52との共培養によってもGM-CSFとCSF-1を分泌するということが分かり、つまりはXS52と7-17を共培養した時、XS52も何らかの活性化シグナルを7-17に送り、7-17からGM-CSFとCSF-1を分泌させている可能性があるということを示唆している。そこで我々は共培養系におけるXS52の7-17に対する作用についても検討した。7-17はコンカナバリンAによってIL-2受容体 γ 鎖の発現が亢進するが、XS52との共培養によっても発現の亢進が認められた。さらに、7-17のIL15に対する増殖反応性はコンカナバリンAによって増大するが、XS52との共培養によっても増大した。

以上、我々はランゲルハンス細胞と樹状上皮T細胞の相互作用について細胞株を用いて検討した。我々の得た結果はランゲルハンス細胞が樹状上皮T細胞を活性化させてランゲルハンス細胞自身の増殖因子であるGM-CSF、CSF-1を分泌させているということを示唆している。我々は生体内においてもランゲルハンス細胞と樹状上皮T細胞が同様の機構で相互作用し、表皮内の微小環境において互いの機能に影響を及ぼし合っているということを提唱する。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小野江 和 則
副 査 教 授 小 林 邦 彦
副 査 教 授 柿 沼 光 明
副 査 教 授 大河原 章

学 位 論 文 題 名

Cytokine-Mediated Communication Between Dendritic Epidermal T Cells and Langerhans Cells, In Vitro Studies Using Cell Lines.

(樹状上皮T細胞とランゲルハンス細胞のサイトカインを介した相互作用, 細胞株を用いた in vitro における研究)

マウスの表皮には二種類の白血球分画由来の細胞が存在する。樹状細胞に属するランゲルハンス細胞と $\gamma\delta$ T細胞に属する樹状上皮T細胞である。生体ではこれらの細胞は近接して存在するにも関わらず、ランゲルハンス細胞と樹状上皮T細胞が互いの機能にどのような影響を与えているかについては不明である。本研究では樹状細胞株 XS52 と樹状上皮T細胞株 7-17 を用いてこれらの細胞の相互作用について検討し、以下の結果を得た。

XS52 と 7-17 を共培養すると、どちらか単独で培養した時よりも増殖反応が増大した。XS52 は γ 線を照射した 7-17 と共培養すると増殖反応が増大したが、7-17 は γ 線を照射した XS52 と共培養しても増殖反応は増大しなかった。XS52 は抗 CD3 抗体あるいはコンカナバリン A で刺激した 7-17 培養上清を加えることによっても増殖反応が増大し、無刺激の 7-17 培養上清に対しては反応しなかった。また、XS52 に抗 CD3 抗体で刺激した脾臓由来 T 細胞の培養上清を加えると増殖反応は増大しなかったが、この系に抗インターフェロン γ 抗体を加えると増殖反応が増大した。よって、7-17 による XS52 の増殖反応は樹状上皮T細胞に特異的な反応ではないと考えられた。

次に 7-17 による XS52 の増殖反応において、どのような因子が関与しているのかについて検討した。7-17 あるいは 7-17 の培養上清による XS52 の増殖反応は、抗 GM-CSF 抗体あるいは抗 CSF-1 受容体抗体によって部分的 (70% まで) に抑制され、両抗体によってほぼ完全 (90% まで) に抑制された。従って、7-17 による XS52 の増殖反応は、主に GM-CSF と CSF-1 によるものであると考えられた。その他に XS52 の増殖反応を誘導する可能性のある因子を同定するため、28 の異なったサイトカインを用いて XS52 の増殖反応を調べたところ、IL-4 と IL-13 が有意な増殖反応を起こした。しかし、抗 IL-4 抗体は 7-17 の培養上清による XS52 の増殖反応を抑制せず、また IL-4 は 7-17 の培養上清には存在しなかった。IL-13 に関しては、抗体が手に入らず検討できなかった。従って、GM-CSF と CSF-1 (可能

性として IL-13 も) が、7-17 による XS52 の増殖反応に関与していると結論した。

これらの結果から 7-17 が抗 CD3 抗体あるいはコンカナバリン A によってだけではなく、XS52 との共培養によっても GM-CSF と CSF-1 を分泌することが判明した。つまり、XS52 と 7-17 を共培養したとき、XS52 も何らかの活性化シグナルを 7-17 に送り、7-17 から GM-CSF と CSF-1 を分泌されている可能性が示唆された。そこで共培養系における XS52 の 7-17 に対する作用についても検討した。7-17 は XS52 との共培養によって IL-2 受容体 γ 鎖の発現亢進が認められた。さらに、7-17 の IL-15 に対する増殖反応性は、XS52 との共培養によって増大することが判明した。

以上、ランゲルハンス細胞は樹状上皮 T 細胞を活性化させてランゲルハンス細胞自身の増殖因子である GM-CSF、CSF-1 を分泌させることが判明した。生体内においてもランゲルハンス細胞と樹状上皮 T 細胞が同様の機構で相互作用し、表皮内の微小環境において互いの機能に影響を及ぼし合っていると考えられた。

公開發表に際し、副査の柿沼教授より、皮膚を構成する細胞亜群について、樹状上皮 T 細胞の機能型、小林教授より、樹状上皮 T 細胞に対する刺激系、組織特異的 T 細胞について、ヒトの皮膚との違い、 $\gamma\delta$ T 細胞が皮膚に分布するメカニズム、NK-T 細胞と樹状上皮細胞の異同、GVHD における樹状上皮 T 細胞の役割、大河原教授より、細胞株の研究から生体内機能解明への展望、ケラチノサイトの役割、ランゲルハンス細胞と樹状上皮 T 細胞の分布について質問があり、さらにフロアの免疫研小笠原助教授より、ケラチノサイトの分泌するサイトカインについて、特にランゲルハンス細胞上の CD40 分子について、免疫研岩渕助手より、コモン γ 鎖ノックアウトマウスでのランゲルハンス細胞の出現、主査の小野江より、ランゲルハンス細胞の細胞系列、異系マウスの細胞株を用いたことの影響について質問があった。申請者は最新の情報を混え、大概適切な回答をなし得た。

本研究の手法を応用し、さらに細胞株ではなく正常ランゲルハンス細胞、樹状上皮 T 細胞を用いることにより、皮膚における免疫系の構成メカニズムと役割を解明することができることが期待される。

審査員一同は、これらランゲルハンス細胞と樹状上皮細胞の相互作用に対する先端的研究成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。