

論文内容の要旨

**Induction of langerin⁺ Langerhans cell-like cells expressing reduced TLR3 from
CD34⁺ cord blood cells stimulated with GM-CSF, TGF- β 1, and TNF- α**

GM-CSF, TGF- β 1, TNF- α 刺激による CD34 陽性臍帯血細胞からの TLR3 発現が低下した
Langerin 陽性ランゲルハンス細胞様細胞の誘導

日本医科大学大学院医学研究科 生体防御医学分野

大学院生 東 秀子

Biomedical Research, Vol. 37, 2016 掲載予定

皮膚や粘膜など我々の体表面は、病原性を持たない様々な常在菌と接触するとともに、それらの体内への侵入を防ぐためのバリア機能を有している。時に、これらバリアの破壊などを契機として、各種の病原性を有する細菌やウイルスの体内侵入を受けるが、その病原体の侵入をいち早く認識し、その排除を誘発しバリアの恒常性を保つ機構が存在する。こうしたバリアの恒常性維持を担う中心的な細胞群として樹状細胞 (dendritic cell: DC) の存在が知られているが、特に表皮におけるバリアの維持を担う細胞群が、表皮有棘層内に局在する樹状細胞亜群、すなわちランゲルハンス細胞 (Langerhans cell: LC) であることが判明してきた。

定常状態にある LC は、自己再生し、血液中を循環する前駆細胞より補充されるが、移植や炎症といった特殊な状況下では、骨髄細胞より補充されると想定されている。申請者らはこれまで、定常状態における LC の誘導維持には、表皮内に局在する角化細胞

(keratinocyte: KC) の存在、そして LC ならびに KC の表面に発現した接着因子 E-cadherin (E-cad) による相互接触が必須であることを見だし報告してきた。また最近、脂質抗原提示分子である CD1c 分子を発現した DC を、GM-CSF、TGF- β と骨形成因子 7 (BMP-7) 下に培養すると langerin、Birbeck 顆粒、E-cad を高発現する LC 様細胞になり得ることが報告されたが、その恒常性維持に関わるメカニズムは不明なままである。

表皮内より採取した LC は、異物を捕捉するための特有のセンサーである langerin を発現し、捕捉した異物を分解するための Birbeck 顆粒、そしてその分解された異物を提示するための脂質抗原提示分子 CD1a 分子を発現するとともに、表皮内に存在する細菌由来多糖体糖脂質 (lipopolysaccharide: LPS) に応答しないように、LPS に対するセンサーである Toll-like receptor (TLR)4 の発現が欠損している。この LC の作用機序の研究は、様々な皮膚病態の解明に多くの有益な情報を示すものと考えられているが、皮膚には LC が少なく、かつ有棘層という局所にしか存在しないことから、新鮮なヒト皮膚より多数の LC を採取する事は困難である。そのため IL-4, GM-CSF, TGF- β 1 によって *in vitro* で刺激した末梢血単核球 (PBMo) から誘導したランゲルハンス細胞様細胞 (LC-like cells) が代わりに用いられてきた。こうした問題に対し、我々は上述したように CD14 陽性末梢血単核球より E-cad を発現させ、E-cad を発現している KC を共培養するという手法、および KC の代わりに E-cad を coating したプレートによる刺激によって、表皮内 LC に酷似した TLR4 を発現せず、LPS に対する反応を認めない細胞の誘導ができることを報告した (EJI, 43:270-280, 2013)。

ただし、こうした誘導法では、①末梢血の個体差により、誘導出来る LC 様細胞数が極めて不安定であること、②ヒトからの検体採取にあたって侵襲を伴うこと、③解析に必要十分

な数の LC-like cells を誘導するために相当量の末梢血を要すること、などの克服すべき課題があった。

これらの課題を克服するため、分娩時非侵襲的に、かつ必要十分量採取出来る臍帯血 (UCB) から精製した CD34 陽性の未分化造血細胞からの LC-like cell 誘導を試みた。

その結果、臍帯血由来 CD34 陽性未分化造血細胞に GM-CSF、TGF- β 1 ならびに TNF- α を加え誘導された LC-like cell は、langerin を発現する一方で DC-SIGN は発現しないものの、表皮由来 LC とは異なり常時 TLR4 を発現し、LPS に対する応答性を有していた。また、注目すべきことに細胞内 TLR3 の発現が低下し、その ligand であるウイルス RNA を反映する poly(I:C)への反応も乏しかった。

以上申請者等は、これまで PBMo を用いて誘導した langerin 陽性かつ DC-SIGN 陰性である LC-like cell を、UCB から得た CD34 陽性の未分化造血細胞からも誘導することに成功した。PBMo 由来の LC-like cell は、細菌 LPS には応答しないが、ウイルス RNA には応答するのに対し、今回得られた UCB 由来 LC-like cell は、ウイルス RNA には反応が悪く、細菌 LPS に対しては反応することを見いだした。

こうした事実は、我々の体表面のランゲルハンス細胞には、主として表皮内に配置され細菌由来の LPS には応答しないタイプと、細菌由来の LPS に応答するもののウイルス核酸には応答しにくいタイプの 2 種類が存在する可能性を物語っている。