
シンポジウム

皮膚粘膜の免疫と疾患

Immunology and Diseases in the Skin and Mucous Membrane

第 566 回新潟医学会

日 時 平成13年1月25日(木)
会 場 新潟大学医学部 有壬記念館

司 会 伊藤雅章教授(皮膚科), 伊藤 薫助教授(皮膚科)
演 者 内藤 眞(病理第二), 山本達男(細菌学), 河井一浩(皮膚科), 鈴木健司(内科第三),
富山勝博(皮膚科)
発言者 人見次郎(第三解剖)

司会(伊藤(雅)) それではシンポジウムを始めたいと思います。本日はお集まりいただきましてありがとうございます。充実したシンポジウムを行いたいと思いますので、よろしくお願ひします。演者の先生方にはご発表いただいた後にご質問を受けていただき、最後に時間がありましたら

全体としてご討論いただくという形で行いたいと思いますので、よろしくお願ひします。それでは第一席ですが、皮膚のマクロファージと樹状細胞という事で第二病理の内藤 眞教授にご講演をいただきます。先生よろしくお願ひします。

1 皮膚のマクロファージと樹状細胞

新潟大学大学院医歯学総合研究科
細胞機能講座分子細胞病理学分野
内藤 眞

鳥取大学医学部生命科学科免疫学教室
辺見 弘明・吉野 三也・林 眞一

Macrophages and Dendritic Cells in the Skin

Makoto NAITO

*Department of Cellular Function, Division of Cellular and
Molecular Pathology, Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences*

Hiroaki HENMI

Miya YOSHINO and Shin-ichi HAYASHI

*Department of Immunology, School of Life Science,
Faculty of Medicine, Tottori University*

要 約

色素細胞の産生するメラニン顆粒を抗原と見立てて、皮膚からの抗原輸送機構を検討した。その結果、定常状態でも恒常的に抗原が所属リンパ節に輸送されていること、その際の輸送細胞は TGF- β 1 依存性のランゲルハンス細胞であることが示された。

キーワード：マクロファージ，樹状細胞，メラニン顆粒，抗原輸送機構

はじめに

樹状細胞は骨髄幹細胞に由来する白血球の1種で、強力な抗原提示能を有し、特異的な T 細胞依存性免疫応答を誘導する。近年 in vitro における前駆細胞からの樹状細胞の分化誘導系が確立され、さらに種々の抗体が樹立されたことから、樹状細胞の分化や機能に関する研究が大きく進展した。

樹状細胞の分化には GM-CSF, TNF- α , IL-4 などのサイトカインが重要で、さらにこの細胞系にはマクロファージや顆粒球の近縁細胞であるミエロイド樹状細胞とリンパ球系樹状細胞が存在することも明らかになってきた¹⁾⁻⁴⁾。皮膚における樹状細胞は Langerhans 細胞、真皮内では dermal dendritic cell (interstitial DC)、リンパ管内では veiled cell、リンパ節では interdigitating cell と

Reprint requests to: Makoto NAITO
Department of Cellular Function
Division of Cellular and Molecular Pathology
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科細胞機能講座
分子細胞病理学分野 内藤 眞

呼ばれ、骨髄球系細胞由来の樹状細胞と考えられている。

皮膚の樹状細胞については接触皮膚炎やアトピー性皮膚炎モデルの解析が進められている。いずれも皮膚において抗原を捕捉し、Tリンパ球に抗原を提示することが病態の基本である。皮膚炎において、樹状細胞がリンパ節に集積しリンパ節腫脹をきたす皮膚病性リンパ節症という状態がしばしば発現することからも、樹状細胞の皮膚からリンパ節への移動経路の存在が考慮されている。本研究では皮膚から所属リンパ節への抗原提示機構について解析するために、メラニン産生の亢進を特徴とするマウス、無リンパ節マウス、樹状細胞を欠損する TGF- β 1 ノックアウトマウスでのメラニン顆粒と樹状細胞の動態を検討したので報告する。

材料と方法

動物：皮膚色素細胞過剰状態を惹起するため、ヒトサイトケラチン14遺伝子調節領域の制御下に steel factor (SLF; gene symbol: Mgf) あるいは肝細胞増殖因子 (HGF) の cDNA 全長を発現させた SLF トランスジェニックマウス (Mgf-Tg) および HGF トランスジェニックマウス (Hgf-Tg) を作成した⁵⁾⁶⁾。また、リンパ節のない aly/aly マウス⁷⁾ を上記トランスジェニックマウスと交配し、aly/aly Mgf-Tg, aly/aly Hgf-Tg も作成した。また、皮膚ランゲルハンス細胞欠損 TGF- β 1 ノックアウトマウス⁸⁾ との交配で、Mgf-Tg Tgf- β 1 (-/-), Hgf-Tg Tgf- β 1 (-/-) についても検討した。

方法：マウスは麻酔下で頸部、腋窩、鼠経部のリンパ節と、肝、脾などの臓器を採取した。組織は4%パラホルムアルデヒドで固定後、Mac-1, F4/80, CD11c を用いて免疫染色を行った。また、一部は電顕的に観察した。

結 果

Mgf-Tg では、主に表皮に、一方 Hgf-Tg では

真皮を中心にメラニン色素の増加が見られ、所属リンパ節がメラニン色素含有細胞により、黒色化していた。特に副皮質とリンパ洞内にメラニン含有マクロファージが多く観察された。しかし、その他の臓器にメラニン顆粒は見られなかった。リンパ節のない aly/aly Mgf-Tg, aly/aly Hgf-Tg では種々の組織のマクロファージにメラニンが取り込まれていた。Mgf-Tg Tgf- β 1 (-/-), Hgf-Tg Tgf- β 1 (-/-) では、皮膚のメラニン細胞は増加していたが、リンパ節にはわずかなメラニン顆粒しか認められなかった。電顕的にはメラニン顆粒は真皮のマクロファージに取り込まれ、表皮のランゲルハンス細胞内にはほとんど見られなかった。リンパ節でもマクロファージが多量のメラニン顆粒を貪食しており、樹状突起の目立つ細胞や Birbeck 顆粒を有する細胞への取り込みは僅かだった。

考 案

免疫反応の始動は抗原の捕捉、リンパ節への移入、そして免疫担当細胞への抗原提示である。皮膚における抗原の捕捉と所属リンパ節への輸送をどの細胞がやっているかという昔からの疑問は現在でも十分に解明されていない。本研究では非炎症状態において、樹状細胞やマクロファージが抗原を捕捉し、リンパ節には抗原を有する樹状細胞とマクロファージが存在すること、および皮膚からの抗原輸送に係わっているのは TGF- β 依存性の細胞であることを明らかにした。

従来、皮膚の樹状細胞やマクロファージが抗原のリンパ節への輸送に機能していることは可溶性の抗原を塗布する方法で検討されてきた。本研究のマウスモデルは皮膚からの抗原提供機構を可視的に観察する方法として開発された。細胞に捕捉されないメラニン顆粒が直接真皮リンパ管に流れ込む可能性はあるが、大きな顆粒はほとんど細胞に取り込まれると考えられる。メラニン顆粒は主に所属リンパ節に見られ、その他のリンパ節や臓器にはほとんど存在しなかったことから、メラニンは通常血液中には流れていないと思われる。し

Antigen-Trafficking from The Skin

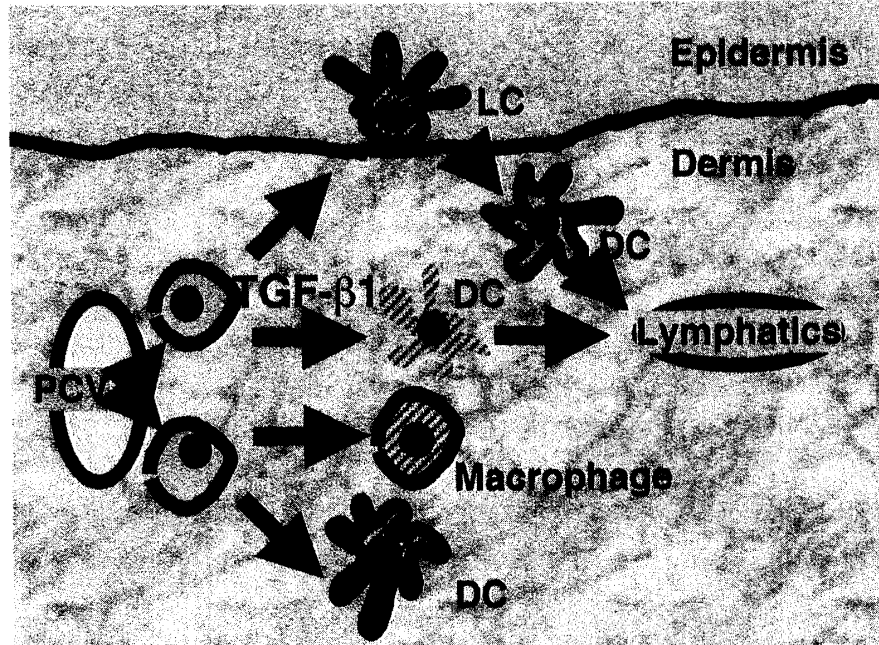


図1 皮膚からの抗原の移送と樹状細胞

樹状細胞 (DC) やマクロファージ (Macrophage) の前駆細胞は血中から後毛細血管静脈 (PCV) を経由し真皮 (Dermis) に入るが, TGF- β 1 は樹状細胞の分化に必須である. 表皮内 (Epidermis) のランゲルハンス細胞 (LC) は抗原を取り込んで真皮に移動し, リンパ管 (Lymphatics) を経てリンパ節に運ばれる. マクロファージや真皮の樹状細胞が皮膚からリンパ節への抗原輸送に関与しているかどうかは明らかでない.

かし, リンパ節のない *aly/aly* マウスではリンパ節での捕捉がなされないため, 諸臓器内にメラニン蓄積が起きる.

真皮内ではメラニン顆粒を取り込んだマクロファージが多数認められた. このことから, 真皮においては樹状細胞はメラニン取り込みに効率的に働いていないことが推定される. 樹状細胞とマクロファージがメラニン顆粒のリンパ装置への輸送において互いにどんな役割を担っているかなお明確ではない. しかし, TGF- β 1 ノックアウトマウスでは Langerhans 顆粒が欠損している⁹⁾¹⁰⁾ ことから, このマウスの所属リンパ節にメラニン保有細胞があれば, それは Langerhans 細胞以外の細胞が抗原の輸送に係わっていることを意味する. しかし,

TGF- β 1 ノックアウトマウスでメラニンがリンパ節に蓄積しなかったことから, Langerhans 細胞または TGF- β に依存する細胞が輸送担当細胞として機能していると考えられる. この2重変異マウスでは後者が重要な役割を果たしているものと思われる (図1).

おわりに

本研究で用いた皮膚色素細胞過剰マウスは皮膚から所属リンパ節への抗原提示機構解析に有用なモデルになると思われる.

参考文献

- 1) Caux C, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D, and Banchereau J: GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. *Nature* 360: 258-261 1992.
- 2) Inaba K, Inaba M, Romani N, Aya H, Deguchi M, Ikehara S, Muramatsu S and Steinman RM: Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 176: 1693-1702 1992.
- 3) Takahashi K, Naito M, Shultz LD, Hayashi SI and Nishikawa SI: Differentiation of dendritic cell populations in macrophage colony-stimulating factor-deficient mice homozygous for the osteopetrosis (op) mutation. *J Leukoc Biol* 53: 19-28 1993.
- 4) Zhang Y, Zhang YY, Ogata M, Chen P, Harada A, Hashimoto S and Matsushima K: Transforming growth factor- β 1 polarizes murine hematopoietic progenitor cells to generate Langerhans cell-like dendritic cells through a monocyte/macrophage differentiation pathway. *Blood* 93: 1208-1220 1999.
- 5) Kunisada T, Lu SZ, Yoshida H, Nishikawa S, Nishikawa SI, Mizoguchi M, Hayashi SI, Tyrrell L, Williams DA, Wang X and Longley BJ: Murine cutaneous mastocytosis and epidermal melanocytosis induced by keratinocyte expression of transgenic stem cell factor. *J Exp Med* 187: 1565-1573 1998.
- 6) Kunisada T, Yoshida H, Yamazaki H, Miyamoto A, Hemmi H, Nishimura E, Shultz LD, Nishikawa SI and Hayashi SI: Transgene expression of steel factor in the basal layer of epidermis promotes survival, proliferation, differentiation and migration of melanocyte precursors. *Development* 125: 2915-2923 1998.
- 7) Miyawaki S, Nakamura Y, Suzuka H, Koba M, Yasumizu R, Ikehara S and Shibata Y: A new mutation, aly, that induces a generalized lack of lymph nodes accompanied by immunodeficiency in mice. *Eur J Immunol* 24: 429-434 1994.
- 8) Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC, Roberts AB, Spom MB, Ward JM and Karlsson S: Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 770-774 1993.
- 9) Borkowski TA, Letterio JJ, Farr AG and Udey MC: A role for endogenous transforming growth factor β 1 in Langerhans cell biology: The skin of transforming growth factor β 1 null mice is devoid of epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 184: 2417-2422 1996.
- 10) Borkowski TA, Letterio JJ, Mackall CL, Saitoh A, Wang X-J, Roop DR, Gress RE and Udey MC: A role for TGF β 1 in Langerhans cell biology. *J Clin Invest* 100: 575-581 1997.

司会 (伊藤 (雅)) ありがとうございます。ただいまのご演題についてご質問ご意見等ございますでしょうか。

質問 リンパ節の樹状細胞とマクロファージはどこから来るのですか。

内藤 マクロファージはおそらくあの樹状細胞が運んできてリンパ節の中でばらまいたメラニン顆粒を取り込むその量が多くなればなるほど増えてゆく。それと同時にリンパ節内の樹状細胞も増えてゆくのですけれど、マクロファージ自体が皮膚からくるという証拠はこの実験ではありません。

質問 メラニン顆粒のリンパ節への移動に樹状細胞とマクロファージはどの様に関与しているのですか。

内藤 表皮の中にはマクロファージといえる細胞はないので、存在しているのはランゲルハンス細胞とその分化段階からいうともう少し若い細胞、バーベック顆粒を持っていない樹状細胞、リンパ球系の樹状細胞だろうと思います。よく電顕で見ますとその樹状細胞、ランゲルハンス細胞の中にも少量のメラニン顆粒を持っている細胞が見られます。ですからその細胞が真皮に落ちてメラニン顆粒をばらまくか、あるいはメラニン顆粒が表皮から直接落ちて真皮のマクロファージに取り込まれ

るという事は起こっていると思います。しかしマクロファージがそこからまたリンパ管に入るかという点、リンパ管の中で検出されるのは樹状細胞だけといわれておりますので、マクロファージではなくて樹状細胞が取り込み量が少なくてもメラニンの輸送には活発に関係していると考えております。

河井 TGF- β のノックアウトでも真皮内の lymphoid dendritic cell があるんじゃないかと思うんですけど、例えば HGF のトランスジェニックマウスでは真皮に落ちたものを lymphoid DC が拾ってリンパ節に行くという pathway が先生のデータではないと

いうことでしょうか？

内藤 それはこの実験系ではわかりません。表皮内の lymphoid DC は TGF- β ノックアウトでもありますので先生のお話されたような可能性は十分あると思います。

司会(伊藤(雅)) 皮膚疾患ではメラニンが真皮に落ちて大量にリンパ節に行っていることもあるので非常に興味あるお話だったと思います。それでは次のご講演に行きたいと思います。粘膜の免疫機構という事で細菌学教室教授の山本達男先生よろしくお願ひします。

2 粘膜の免疫機構

新潟大学大学院医歯学総合研究科

国際感染医学講座細菌学分野

山本 達男・種池 郁恵・小塩 精一

Mucosal Immune System

Tatsuo YAMAMOTO, Ikue TANEIKE and Seiichi KOJIO

*Division of Bacteriology Department of Infectious Disease
Control and International Medicine, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences*

Abstract

Human mucosa possesses a specific immune system mainly consisting of production of secretory IgA and bactericidal IgG, which is different from the blood immune system. Establishment of mucosal immunity by strongly inducing specific mucosal immune responses with vaccine (and adjuvant) may effectively block the early step of pathogenic infection, which is colonization of pathogens to the mucosa. It is awaited that practical use of the mucosal immunity theory can be used to control (e.g.) influenza, new type cholera O139, and pulmonary anthrax caused by bioterrorism.

Key words: mucosal immunity, Peyer's patches, M cells, mucosal vaccine

Reprint requests to: Tatsuo YAMAMOTO
Division of Bacteriology Department of
Infectious Disease Control and International
Medicine Niigata University Graduate
School of Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市旭町通り1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科国際感染医学講座
細菌学分野 山本達男