

しむらひでき

氏名	志村英樹
学位	博士(医学)
学位記番号	新大院博(医)第1185号
学位授与の日付	平成17年 3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Up-regulation of cell surface Toll-like receptor 4-MD2 expression on dendritic epidermal T cells after the emigration from epidermis during cutaneous inflammation (樹枝状表皮 T 細胞の細胞表面における Toll-like receptor 4-MD2 複合体の発現は皮膚の炎症に伴う表皮からの遊出によりアップレギュレートする)
論文審査委員	主査 教授 安保 徹 副査 教授 伊藤 雅章 副査 教授 内藤 眞

博士論文の要旨

背景

マウスの表皮内に存在する樹枝状表皮 T 細胞は、多様性のない $\gamma\delta$ T 細胞レセプター (TCR) を介してストレスを受けた表皮ケラチノサイト上に発現する自己抗原を認識し、創傷治癒および皮膚における腫瘍の排除や炎症の調節に関わっている。樹枝状表皮 T 細胞から樹立したいくつかの細胞株は TCR シグナルの存在下でグラム陰性桿菌に、また、B 細胞株の存在下でリポポリサッカライド (LPS) に反応することが報告されているが、樹枝状表皮 T 細胞の発現する LPS レセプターは同定されていない。

目的

本研究では近年明らかになった LPS レセプターである Toll-like receptor (TLR) 4-MD2 複合体の樹枝状表皮 T 細胞における発現の有無を検討した。

方法

独立に樹立された樹枝状表皮 T 細胞株 3 株について、TLR4、MD2 および TLR4-MD2 複合体の発現を RT-PCR、フローサイトメトリー、イムノブロット法により解析した。樹枝状表皮 T 細胞株 (5×10^4) を固層化抗 CD3 モノクローナル抗体 (0.1、1、10 $\mu\text{g/ml}$) の存在下に LPS (10 $\mu\text{g/ml}$) で 24 時間刺激し、上清中の TNF- α 濃度を ELISA 法により測定した。また、樹枝状表皮 T 細胞株を rIL-12 (10 ng/ml) 単独、rIL-12 (10 ng/ml) と rIL-18 (100 ng/ml)、固層化抗 CD3 モノクローナル抗体 (10 $\mu\text{g/ml}$) で 24 時間刺激し、上清中の IFN- γ 濃度を ELISA 法により測定した。正常マウス皮膚から新規に調製した樹枝状表皮 T 細胞、胎生 17 日の胎仔胸腺細胞、クロトンオイル塗布により炎症を起こした皮膚から調製した表皮および真皮内 $V\gamma 3$ T 細胞、組織培養した表皮から培養液中に遊出した $V\gamma 3$ 細胞についても TLR4-MD2 複合体の発現をフローサイトメトリーで解析した。

結果

全ての樹枝状表皮 T 細胞株で TLR4 と MD2 の mRNA および細胞内に TLR4-MD2 蛋白複合体の発現がみられたが、細胞表面での TLR4-MD2 複合体の発現は認められなかった。免疫ブロット法では、未成熟な TLR4 蛋白のみが検出された。全ての樹枝状表皮 T 細胞株は TLR シグナルの存在下で LPS に反応しなかった。正常マウス皮膚から新規に調製した樹枝状表皮 T 細胞および V γ 3 T 細胞の前駆細胞である胎仔胸腺細胞も細胞表面に TLR4-MD2 複合体の発現はみられなかったが、クロトンオイルを塗布した皮膚から調製した真皮内 V γ 3 T 細胞の一部に TLR4-MD2 複合体の発現が認められた。また、組織培養した表皮から遊出した V γ 3 T 細胞も TLR4-MD2 複合体を細胞表面に発現していた。

結論

以上の結果より、樹枝状表皮 T 細胞は恒常的には TLR4-MD2 複合体を発現していないが、皮膚の炎症に伴う表皮からの遊出により、細胞表面での TLR4-MD2 複合体の発現がアップレギュレートすることが明らかになった。

審査結果の要旨

マウスの表皮内に存在する樹枝状表皮 T 細胞は、TLR シグナルの存在下で LPS に反応するとされるが、樹枝状表皮 T 細胞の発現する LPS レセプターは同定されていない。申請者は本研究で LPS レセプターである TLR4-MD2 複合体の樹枝状表皮 T 細胞における発現の有無を検討している。樹枝状表皮 T 細胞株で細胞内に TLR4-MD2 蛋白複合体の発現がみられたが、細胞表面での発現は認められなかった。樹枝状表皮 T 細胞株は TLR シグナルの存在下で LPS に反応しなかった。正常マウス皮膚から新規に調製した樹枝状表皮 T 細胞に TLR4-MD2 複合体の発現はみられなかったが、クロトンオイルを塗布した皮膚から調製した真皮内 V γ 3 T 細胞の一部にその発現が認められた。また、組織培養した表皮から遊出した V γ 3 T 細胞も TLR4-MD2 複合体を細胞表面に発現していた。以上より、樹枝状表皮 T 細胞は恒常的には TLR4-MD2 複合体を発現していないが、皮膚の炎症に伴う表皮からの遊出により、細胞表面での TLR4-MD2 複合体の発現がアップレギュレートすることを明らかにしている。本研究は皮膚の感染防御機構解明の一助になると考えられる。以上の点に学位論文としての価値を認めた。