

Title	In situ demonstration of dendritic cell migration from rat intestine to mesenteric lymph nodes : relationships to maturation and role of chemokines.
Sub Title	ラット生体内における樹状細胞の腸管より腸間膜リンパ節への移行に関する解析 : 樹状細胞成熟度とケモカインの影響についての検討
Author	小林, 央
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.23-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0023">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0023</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# In situ demonstration of dendritic cell migration from rat intestine to mesenteric lymph nodes : relationships to maturation and role of chemokines.

(ラット生体内における樹状細胞の腸管より腸間膜リンパ節への移行に関する解析：  
樹状細胞成熟度とケモカインの影響についての検討)

小林 央

## 内容の要旨

樹状細胞は強力な抗原提示細胞であり、所属リンパ系器官へと移動しつつ成熟することが知られているが、移行先を決定する因子について報告は少ない。本研究では、樹状細胞が腸管壁からリンパ管を經由し腸間膜リンパ節へ移行する動態を生体観察し、成熟度の違いや、細胞上の接着分子或いはケモカインやその受容体の関与につき検討した。

Wistarラットを用い、腸間膜リンパ節除去後の腸管リンパ液及び脾臓より樹状細胞を採取した。リンパ液の未熟樹状細胞はTNF- $\alpha$ 、IL-4およびGM-CSFを用いて成熟誘導させた。樹状細胞の食食能はラテックスミクロスフェアを用い、細胞表面抗原の表出はフローサイトメトリーを用い解析した。樹状細胞を蛍光色素CFDSEで標識後に小腸腸壁下に局所注入し経時的に腸間膜リンパ節への移行細胞数を観察し、腸間膜リンパ節の凍結標本にて定量した。細胞接着分子ICAM-1及びCD11b/c、ケモカイン6Ckine (CCL21)、SDF-1 $\alpha$  (CXCL12)、MIP-3 $\alpha$  (CCL20)の関与を検討した。またケモカインに対する遊走能はポリカーボネート・フィルターを用い解析した。

腸管由来未熟樹状細胞の食食能は維持されていたが、成熟誘導された細胞の食食能は低下していた。脾臓細胞の食食能はその中間の状態であった。未熟樹状細胞はMHC II、ICAM-1、CD11b/cの表出を認めたが共刺激分子の表出は低く、成熟誘導された樹状細胞では共刺激分子およびMHC IIの表出が増加し、脾臓細胞はその中間的パターンを示した。未熟樹状細胞は、局注48時間において腸間膜リンパ節へ最大移行したが、成熟及び脾臓樹状細胞は、24時間後に最大となった。ICAM-1やCD11b/cに対する抗体投与は樹状細胞の移行に影響を与えなかった。成熟樹状細胞はCCL21への遊走能を示し、CCR7の脱感作により腸間膜リンパ節への移行が阻害された。脾臓細胞はCCL21へ弱い遊走能を示したがCCR7脱感作により移行は抑制されなかった。未熟樹状細胞はCCL20への遊走能を示し、リンパ節移行はCCR6の阻害によって抑制された。腸間膜リンパ節ではCCL20発現を認め、一方CCR6とCCR7のmRNAは未熟及び成熟樹状細胞両者で確認されたが、前者は未熟細胞において、後者は成熟細胞において強く発現していた。

従来樹状細胞は刺激下でのみ末梢からリンパ節へ移行すると考えられていたが、腸管リンパ由来の樹状細胞は無刺激の状態でも、定常的に移行していることが明らかになった。脾臓細胞が成熟細胞の移行動態と類似していることは、成熟度が移行速度を規定する主たる因子であることを示唆している。また本研究は腸間膜リンパ節への移行にケモカインとそのリガンドが重要な役割を果たすことを示した。

## 論文審査の要旨

本研究では、樹状細胞が腸管壁からリンパ管を經由し腸間膜リンパ節へ移行する動態を生体観察し、成熟度の違い、細胞上の接着分子或いはケモカインとその受容体の関与につき検討した。

Wistarラットを用い、腸間膜リンパ節除去後の腸管リンパ液及び脾臓より樹状細胞を採取しTNF- $\alpha$ 、IL-4およびGM-CSFを用いて成熟誘導させた。樹状細胞の食食能はラテックスミクロスフェアを用いて測定し、未熟樹状細胞の食食能は維持されていたが、成熟誘導された細胞の食食能は低下し脾臓由来樹状細胞の食食能はその中間的な状態であったことが明らかとなった。細胞表面抗原の表出はフローサイトメトリーを用い解析し、未熟樹状細胞ではMHCII、ICAM-1、CD11b/c

の表出を認めたが共刺激分子の表出は低く、成熟誘導された樹状細胞では共刺激分子およびMHCIIの表出が増加し、脾臓由来樹状細胞はその中間的パターンを示した。樹状細胞を蛍光色素CFDSE (carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester) で標識後に小腸腸壁下に局所注入し経時的に腸間膜リンパ節への移行細胞数を観察し、腸間膜リンパ節の凍結標本にて定量した。またケモカインに対する遊走能はポリカーボネート・フィルターを用い解析した。未熟樹状細胞では、局注48時間後に腸間膜リンパ節へ最大移行したが、成熟及び脾臓由来樹状細胞では、局注24時間後に最大となり、ICAM-1及びCD11b/cに対する抗体投与は樹状細胞のリンパ節への移行に影響を与えなかった。成熟樹状細胞はCCL21への遊走能を示し、CCR7の脱感作により腸間膜リンパ節への移行が阻害された。脾臓由来樹状細胞はCCL21への弱い遊走能を示したがCCR7の脱感作ではその移行は抑制されなかった。未熟樹状細胞はCCL20への遊走能を示し、CCR6の脱感作にて腸間膜リンパ節への移行は抑制された。更に、腸間膜リンパ節でのCCL20蛋白の発現が確認された。未熟及び成熟樹状細胞におけるCCR6とCCR7の発現がmRNAレベルで確認されたが、前者は未熟樹状細胞において、後者は成熟樹状細胞において強く発現していた。

これらの結果より、従来樹状細胞は刺激下でのみ末梢からリンパ節へ移行すると考えられていたが、腸管由来の樹状細胞は無刺激の状態でも、定常的に移行していることが明らかになり、また脾臓由来樹状細胞の移行動態が成熟樹状細胞の移行動態と類似しているのは成熟度が移行動態を規定する主たる因子であること、腸間膜リンパ節への移行にケモカインとそのリガンドが重要な役割を果たすこと、などが示唆された。

審査では、本研究において胸管ドレナージによって得られた樹状細胞の性格について疑問がなされた。一般の未処置のラットにおいて同様の処置を行った場合にはほとんど樹状細胞がとれないが本研究において腸間膜リンパ節除去ラットでは有意な数での樹状細胞が採取されたこと、食食能や表面抗原の状態から得られた樹状細胞は未熟の状態に近い樹状細胞であると推測されること、腸管壁除去ラットの腸管を観察したところ炎症反応など病理学的所見に乏しかったことから非刺激下で樹状細胞が採取されたと予想されること、などが述べられ、了解された。

また、臨床との関連での質問に対して、ヒトでも未熟に近い状態の樹状細胞が循環し免疫寛容に関わっているとの文献的報告が見られること、拒絶患者においてはガン細胞と反応させ抗原提示をさせるためには食食能を有する未熟な樹状細胞が良いが、T細胞と反応し活性化させるためには成熟化した樹状細胞が望ましいこと、などが述べられた。

なお、論文中の組織写真については改善の必要が望まれること、in vitroで成熟誘導を行った樹状細胞の他にin vivoにて成熟誘導を行った樹状細胞でも表面抗原の解析を行うことも望まれることなどの指摘があった。

以上の審査の結果、本研究は、将来免疫反応の異常によって惹起されるアレルギー疾患、炎症性腸疾患の病態解明へと至る腸管樹状細胞についての基本的性格を明らかにしたものととして消化器病学上有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 解剖学 相磯 貞和  
外科学 北島 政樹 微生物学・免疫学 石川 博通  
医学部 末松 誠  
学術確認担当者：北島 政樹  
審査委員長：北島 政樹  
研究指導者：石井 裕正 (内科学)

試問日：平成16年 6月 7日