

1D5

未感作の可溶性抗原を提示するヒト末梢血樹状細胞はCD2+, CD33+HLA-DR+の前駆細胞から分化する: 渡辺薫^{1,2}、高見沢勝¹、菊池安希子²、齋田美江²、Edgar G Engleman³、十字猛夫²、岩田力¹ (東大分院小児科、²日赤中央血液センター、³スタンフォード大病理)

【目的】ヒト末梢血樹状細胞にはいくつかの分離法があり、その性状についても一定の見解が得られていない。定義が不明確のうえに他の免疫細胞と異なり特異抗原が明らかとなっていないためである。マウスで明らかにされたように樹状細胞は可溶性抗原に対する一次免疫応答における主要な抗原提示細胞である。このような機能をもつヒト樹状細胞とその前駆細胞の分離を試み、その性状について検討した。

【方法】末梢血単核球からパーコール比重遠心法により単球を除去し、パニング法でT, B, NK細胞を除去した。3重染色での解析からHLA-DR(+)でlineage(-)の細胞にはCD2(+)とCD2(-)の分画が存在した。ソーティングによって得られた各分画の培養前後における形態、フェノタイプ、機能について検討した。

【結果と考察】分離直後のCD2(-)CD33(+/-)及びCD2(+)CD33(+)細胞は円形で抗原提示能をもたないが培養によって共に樹状形態を呈した。CD2(+)CD33(+)細胞由来の樹状細胞だけがCD86を強く発現するとともに可溶性の未感作抗原(KLH, H1Vgp160)に対する一次応答を誘導した。抗原提示能のないCD2(+)CD33(+)細胞も単球が存在することによってKLHにたいするナイーブT細胞の増殖を誘導した。極く一部のCD2(+)CD33(+)細胞は増殖し、HLA-DR, CD86分子の発現の増強を認めた。一次応答の誘導を担うヒト末梢血樹状細胞はCD2(+)CD33(+)HLA-DR(++)lineage(-)の幹細胞から分化してくることが示唆された。

1D7

steel因子トランスジェニックマウスを用いた皮膚からの抗原輸送機構の解析: 邊見弘明¹、園貞隆弘¹、山崎英俊¹、多加谷寿¹、宮本頼友²、山根利之¹、稻葉カヨ³、西川伸一³、小川峰太郎⁴、林真一¹ (鳥取大・医・生命科学・免疫、²京大・理・動物、³京大・医・分子遺伝、⁴Basel Institute for Immunology)

樹状細胞は、抗原をリンパ器官に輸送し抗原を提示する細胞である。我々は、ヒトケラチン14のプロモーターを用いて皮膚の基底層でsteel因子を過剰に発現するトランスジェニックマウス(Tg)を作製したところ、皮膚での色素細胞が過剰に増殖したマウスが得られ、皮膚の所属リンパ節でメラニン粒子を帯びた細胞が主に傍皮質部において観察されたが、その一方で皮膚の所属リンパ節以外のリンパ節や脾臓では観察できなかった。メラニン粒子を帯びた細胞は、樹状細胞のマーカーであるDEC-205陽性もしくはCD11c陽性であったので、皮膚の樹状細胞であるランゲルハンス細胞がこの粒子を所属リンパ節にのみ運んできたことが示唆された。このTgは、出生直後には手足が黒くなっており、メラニン粒子はリンパ節で少なくとも生後3日で観察された。この頃はまだリンパ節の構築ができあがっていないことから、ランゲルハンス細胞はリンパ節の構築が完成する以前に抗原を輸送することができることが示唆された。また、皮膚からの抗原は脾臓には運ばれないことが示された。外界からの抗原の投与を行わずに皮膚からの抗原の輸送を検討するのに適したマウスであると考えられる。最近、flk2/flt3のリガンドの投与により樹状細胞系譜の細胞が増加することが報告されたが、現在、このTgを用いてflk2/flt3に対する阻害抗体の投与により皮膚からの抗原の輸送の変化を解析しており、この結果についても報告する。

1D6

リンパ節樹状細胞の性状と内在性抗原ペプチドの提示: 作田拓¹、稲葉宗夫²、池原進²、Ralph M. Steinman³、稲葉カヨ¹ (京大・理・動物、²関西医大・1病理、³ロックフェラー大学)

【目的】リンパ節は一次免疫応答が誘導される場であり、またそのリンパ節樹状細胞は外来性抗原に対する免疫応答において非常に強力な抗原提示機能を発揮することが知られている。しかし、内在性抗原の提示機能に関しては明かではない。そこで本研究において、リンパ節樹状細胞の性状と内在性タンパクとしてI-E^d由来のペプチドの提示について検討した。

【方法・材料】C57BL/6, (BALB/c x DBA/2)F1, (BALB/c x C57BL/6)F1, (C57BL/6 x DBA/2)F1マウスのリンパ節を酵素抗体法を用いて組織学的に調べると共に、コラゲナーゼ処理後低密度細胞をそのままあるいは固定透過処理後、I-A^b結合性I-E^dペプチドを認識するY-A^b抗体をはじめとする種々の抗体を用いて染色し、FACSにて表現型を解析した。また精製分離した樹状細胞やB細胞を用いて、特異的T細胞活性化能を検討した。

【結果と考察】樹状細胞はリンパ節副皮質部に分布し、これらは多量のMHC class II抗原と内在性ペプチドを発現していることが示された。脾臓においても特に白質T領域の樹状細胞で同様の結果が得られた。一方、固定透過処理した樹状細胞では、DEC-205, 2A1, M342, MIDC-8などの抗体で強く染色される樹状細胞が認められ、これらはCD11c弱陽性であることが示され、CD11c弱陽性樹状細胞は、強陽性樹状細胞に比べ、class I, class II, CD40, CD54, CD86等の発現が高いことが明らかにされた。また、Y-A^b陽性細胞についても、CD11c陽性細胞と同様の表現型をとることが示された。精製した細胞を用いて特異的T細胞のIL-2産生を比較検討したところ、樹状細胞はB細胞に比べて30倍以上の活性をもつこと、活性化されたT細胞はアポトーシスにより細胞死に至ることが示された。以上の結果より、末梢組織における樹状細胞が自己応答性のT細胞活性化に参与していることが推測される。

1D8

ファブリキウス嚢における母親(卵黄)由来のIgGを保持する濾胞樹状細胞: 荒川 央¹、保田昌宏²、吉沢修一³、横山英明⁴、山岸秀夫¹、沼野成生¹ (京大・理・生物物理、²熊本大・医・解剖、³広島大・生物生産・免疫生物、⁴岐阜免疫研究所)

ニワトリのB細胞は、ファブリキウス嚢で分化、増殖、多様化することが知られている。ファブリキウス嚢を構成する一万個あまりの濾胞髄質に、IgGを保持した大型の細胞が孵化直後出現する。in situ hybridizationを用いた観察では、この細胞はIgG mRNAを発現していない。我々は、「この細胞は濾胞樹状細胞であり、環境抗原-母親由来抗体複合体を保持している。」と推測してきた。共焦点顕微鏡で観察すると、IgGは樹状突起をもつ細胞の表面に分布しており、複雑な細胞間ネットワークを形成していた。これは濾胞樹状細胞のもつ特徴である。孵化前の卵に母親由来IgG (FITCラベル) を注入すると、孵化後3日のファブリキウス嚢組織切片では、ラベルされた抗体は髄質細胞にトラップされ、樹状表面に分布していた。この雛のファブリキウス嚢、脾臓のいずれにおいてもFITCラベルIgG陽性のB細胞が出現した。IgG欠失卵から孵化した雛では、ファブリキウス嚢、脾臓のいずれにおいてもIgG陽性B細胞、IgG強陽性の濾胞樹状細胞は見られなかった。濾胞樹状細胞上にトラップされた環境抗原-母親由来IgG複合体は、抗原に特異性をもつB細胞に受け渡されることにより、B細胞一次レパトリーの選択に関わっている可能性がある。