

Th1/Th2 関連疾患における 末梢血樹状細胞サブセットの解析

獨協医科大学 内科学 (呼吸器・アレルギー)

林 ゆめ子

要 旨 ヒト循環血中の樹状細胞 (DC) には myeloid DC (mDC) と plasmacytoid DC (pDC) の 2 つの主要なサブセットが存在し, mDC は, Th1 を誘導する mDC1 と, Th2 を誘導する mDC2 に分けられる. 本研究では, Th1 疾患であるサルコイドーシス (サ症) (n=30) と Th2 疾患であるアトピー性疾患 (n=23) における末梢血 DC サブセットを, 健常人 (n=23) と比較して検討した. フローサイトメトリーを用いて末梢血中の mDC (CD11c⁺), pDC (CD123⁺), mDC1 (CD1a⁺), mDC2 (CD141⁺) のサブセット解析を行った. サ症群では総 DC, mDC の数が有意に低下していた. mDC/pDC 比は 3 群間で差がなかった. CD1a⁺mDC は, サ症群では対照群と差がなかったが, アトピー群では CD1a⁺mDC の減少, CD1a⁻mDC の増加を認め, CD1a⁺/CD1a⁻mDC 比は小さかった. CD141⁺mDC はアトピー群で有意に増加していたが, CD141⁻mDC 数は 3 群間で有意差はなかった. CD141⁻/CD141⁺mDC 比はアトピー群で有意に低値であった. アトピー群では, CD1a⁺mDC の減少と CD141⁺mDC の増加を認め, 末梢血中 DC の動態が Th2 への偏倚を反映するものと考えられた. サ症では, DC 数は減少し, その動態からは Th1/Th2 の偏倚は明確でなく, 肺などの病変局所に集積した DC を用いた解析が必要と考えられた.

Key Words : 樹状細胞, ヒト末梢血, myeloid DC, CD1a, CD141

緒 言

樹状細胞 (dendritic cell : DC) は, 骨髄由来の強力な抗原提示細胞で, 免疫応答の開始と調節に非常に重要な役割を担っている^{1,2)}. 循環血中では未熟な状態で存在し, 血流によって全身のあらゆる組織に分布する. 組織に分布する未熟 DC は, 食作用機能を持ち, 細菌やウイルスなどの danger signal に遭遇すると, 所属リンパ器官 T 細胞領域へと移動し, 貪食した抗原を MHC 分子に結合して T 細胞に提示する³⁾. その過程で成熟し, T 細胞の活性化に必要なインターフェロン (IFN) などのサイトカインを分泌する.

ヒトの末梢血において, DC は単核球の 1% 未満を占める非常に数の少ない細胞で, 古典的には lineage マーカー (CD3, 14, 16, 19, 20, 56) を欠く抗原提示白血球で,

MHC class II (HLA-DR) を高発現する細胞として定義されている⁴⁾. ヒト末梢血中の DC は, CD11c⁺CD123⁻ の myeloid DC (mDC) と, CD11c⁻CD123⁺ の plasmacytoid DC (pDC) の 2 つの主要なサブセットに分類される⁵⁾. mDC は抗原の貪食やプロセッシングを行い, 強力な抗原提示細胞として機能する. また, Toll-like receptor の刺激により TNF- α を産生し, 成熟すると IL-12 などの炎症性サイトカインを産生する. 一方で pDC は, 抗原提示能や T 細胞の刺激能は非常に弱い, ウイルス感染などに対し, 多量の type I IFNs (IFN- α) を産生するのが特徴である.

ナイーブ T 細胞を Th1 へ誘導する DC は DC1, Th2 へ誘導する DC は DC2 と呼ばれ, かつては mDC が DC1, pDC が DC2 に相当すると考えられていた^{6,7)}. しかしその後の研究により, 現在は, DC1, DC2 は mDC から分化すると考えられている. 実際に, 単球を GM-CSF + IL-4 で培養すると Th1 を誘導しうる DC1 が分化, 誘導され, IL-3 + IL-4 で培養すると Th2 を誘導しうる DC2 ができる^{8,9)}.

DC1 と DC2 を識別するマーカーは明確となっていない

平成 24 年 11 月 20 日受付, 平成 24 年 12 月 13 日受理
別刷請求先: 林ゆめ子

〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880
獨協医科大学 内科学 (呼吸器・アレルギー)

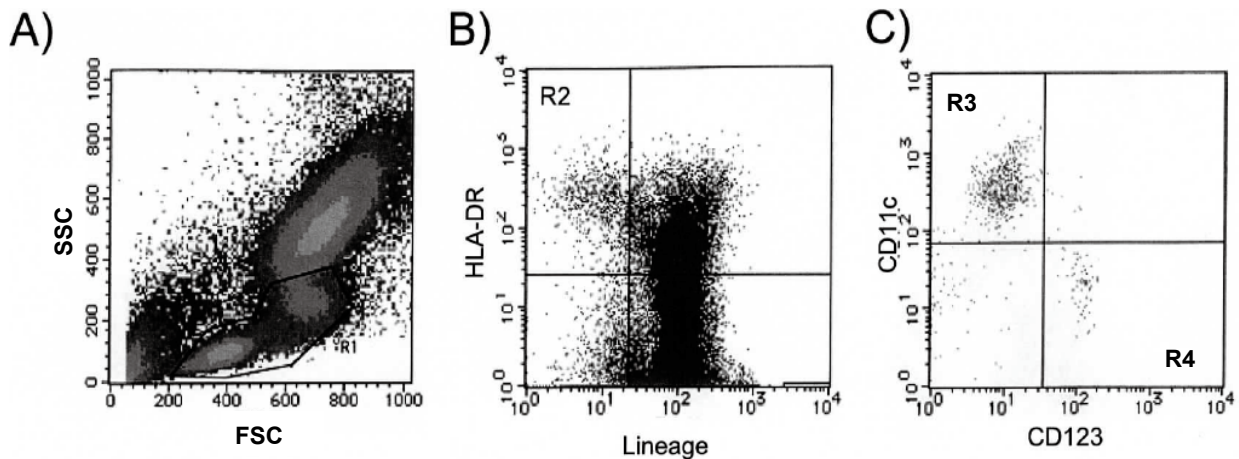


図1 末梢血中樹状細胞のフローサイトメトリー解析

side scatter (SSC) と forward scatter (FSC) により、末梢血全血中の単核球をゲーティングし (図1A, R1), 単核球中の $\text{Lineage}^-/\text{HLA-DR}^+$ が樹状細胞 (DC) である (図1B, R2). DC は、 $\text{Lineage}^-/\text{HLA-DR}^+/\text{CD11c}^+/\text{CD123}^-$ の mDC 細胞サブセット (図1C, R3), $\text{Lineage}^-/\text{HLA-DR}^+/\text{CD11c}^-/\text{CD123}^+$ の pDC 細胞サブセット (図1C, R4) に大別される。

いが、一般に CD1c (blood DC antigen-1: BDCA-1) が mDC1, CD141 (BDCA-3) が mDC2 のマーカーとして用いられている^{10~12)}。われわれの検討では、単核球から GM-CSF で分化した DC1 では CD1c と同等以上に CD1a の発現を認め、CD1a がより良好な mDC1 のマーカーと考えられた⁹⁾。一方、CD141 を mDC2 の表面マーカーとする考えについては議論があり、逆の結果を示す報告もある¹³⁾。実際に、ヒトの循環血中における $\text{CD1a}^+\text{mDC}$, $\text{CD141}^+\text{mDC}$ の機能について明確に述べている報告はない。

今回われわれは、Th1 関連疾患と考えられるサルコイドーシスと、Th2 関連疾患と考えられる気管支喘息を主体するアトピー性疾患において、CD1a と CD141 を使い、mDC1, mDC2 を含む末梢血 DC のサブセットを健常人と比較して解析し、それぞれの病態における Th1/Th2 バランスと末梢血 DC の動態を検討した。また、DC により産生される IL-12 は、ナイーブ T 細胞からの Th1 あるいは Th2 への誘導を決定付ける重要な因子であり、CD1a および CD141 が DC1/DC2 のマーカーとなりうるかどうかを確認する目的で、Fluorescence-activated cell sortor (FACS) で分取した mDC を培養し、その上清の IL-12 の産生を調べた。

方 法

対 象

2009年から2011年までの間に当院で診断したサルコイドーシス患者、アトピー性疾患患者、健常人を対象とした。サルコイドーシスは、全例で気管支鏡を行い、TBLB で非乾酪性類上皮肉芽腫を認め、本邦の診断基

準¹⁴⁾ にのっとり組織学的に確定診断された者を対象とした。病期は Wurm's 分類^{15,16)} を用いて表記し、ステロイドの全身投与を含む何らかの治療が行われた症例は除外した。アトピー性疾患患者は、気管支喘息もしくはアトピー性皮膚炎などのアトピー性疾患を有し、かつ house dust mite (HDM) に対する radioallergosorbent test (RAST) が class2 以上の陽性者を対象とした。吸入、外用を含むステロイド治療が行われていない症例のみを選択した。サルコイドーシスやアトピー性疾患を含む基礎疾患がない健常人で、HDM に対する RAST が陰性の者を対照群とした。また、喫煙が末梢血 DC に及ぼしうる影響を除くため、対象者はすべて、非喫煙者もしくは登録の少なくとも1年以上前に禁煙した既喫煙者とした。試験への参加の前に、全例からインフォームドコンセントを得た。

フローサイトメトリー解析

ヘパリンコートした採血管に新鮮末梢血 20 mL を採取し、モノクローナル蛍光抗体 (Lineage cocktail (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56)-FITC, HLA-DR-PerCP, CD11c-APC, CD123-PE, CD1a-PE (以上, BD Bioscience, San Jose, California, USA), CD141 (BDCA-3)-APC (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) を 10 μ L ずつ加え、室温に2時間おき、その後溶血剤を 10 mL ずつ添加し、攪拌、振盪して溶血させた。遠心、PBS による洗浄を行ったのち、FACS Calibur (BD Biosciences) で解析した。SSC と FSC で単核球をゲーティングし (図1), その中で Lineage^- , HLA-DR^+ の細胞集団を DC とした。CD11c⁺DC を

表 1 患者背景

	サルコイドーシス群 (n=30)	アトピー群 (n=23)	対照群 (n=23)
年齢 (range)	48.3±15.3 (25-72)	45.5±14.8 (26-70)	51.7±14.0 (27-67)
性別 (男性/女性)	13/17	16/7	10/13
stage			
I	8 (26.7%)		
II	20 (66.7%)	—	—
III	2 (6.7%)		
気管支喘息		12	
アトピー性皮膚炎	—	5	—
アレルギー性鼻炎		13	

mDC, CD123⁺DC を pDC とした。さらに, mDC を CD1a⁺mDC と CD1a⁻mDC, また CD141⁺mDC と CD141⁻mDC に分類した。FACS で解析した総イベント数は 200,000 カウントであり, データは WBC 200,000 カウントあたりの細胞数で表記した。

分取した mDC サブセットによる IL-12 の産生

健康人 5 名より採取した新鮮末梢血 100 mL を採取し, 前述の蛍光抗体を添加し, 同様の手順で溶血, 洗浄処理を行った後, FACS Aria (BD Bioscience) を用いて, CD1a⁺mDC, CD1a⁻mDC 細胞群, および CD141⁺mDC, CD141⁻mDC 細胞群を分取した。回収した細胞を, 1 ウェルあたり 1.0×10^4 個で, 96 ウェルプレートに播種し, RPMI 1640, 10% FBS 100 U/mL, ペニシリン 100 μ g/mL と LPS 100 ng/mL を添加して 37°C, 5% CO₂ の条件下で 48 時間培養し, その上清を回収した。Human IL-12 Quantikine high sensitivity ELISA kit (R & D systems, Minneapolis, Minnesota) を用いて, 回収した培養上清中の IL-12 を測定した。

統計学的解析

統計解析は GraphPad Prism 5.04 (Graphpad software, San Diego, California, USA) を用いて行った。データは, 分布に従って, 平均値±標準偏差 (standard deviation, SD), または中央値と四分位範囲 (interquartile range) で表記した。各群間の DC 数, 比の検定には, クラスカルワリス検定を用い, post hoc 解析は Dunn's test で行った。2 群間の平均値の比較にはステューデントの t 検定を用いた。P<0.05 を統計学的有意差とした。

結 果

対象患者の背景

サルコイドーシス群 30 名 (男性 13 名, 女性 17 名), アトピー群 23 名 (男性 16 名, 女性 7 名), 健康人 23 名 (男性 10 名, 女性 13 名) がこの研究に参加した (表 1)。年齢は, サルコイドーシス群が 48.3±15.3 歳, アトピー群が 45.5±14.8 歳, 対照群が 51.7±14.0 歳であった。各群の DC サブセットの結果を, 表 2 にまとめて示す。

1. 末梢血 mDC, pDC サブセット

CD11c⁺ DC (mDC) の数は, サルコイドーシス群 [中央値 320.0 (四分位範囲 226.0, 509.0)] で, 対照群 481.0 (352.0, 700.0) と比べ, 有意に少なかった (P<0.05, 図 2)。CD123⁺DC (pDC) の数は, サルコイドーシス群では 110.5 (62.5, 168.5) で, 対照群 90.0 (62.8, 143.5) と比べ, 少ない傾向があるも有意差はなかった。また, アトピー群も 127.0 (68.0, 268.0) と, 対照群と比較し有意差はなかった。すべての群において, 末梢血中の mDC 数は pDC と比べて高値であり, mDC/pDC 比は 3 群間で有意差がなかった (data not shown)。

2. CD1a⁺mDC サブセット

FACS で解析した各群における CD1a と CD141 発現細胞の分布の代表的データを図 3 に示す。CD11c⁺ CD1a⁺細胞数は, 対照群, サルコイドーシス群と比較し, アトピー群で減少している (図 3A)。一方, CD123⁻ CD141⁺細胞数は, 対照群と比較してアトピー群で増加している (図 3B)。

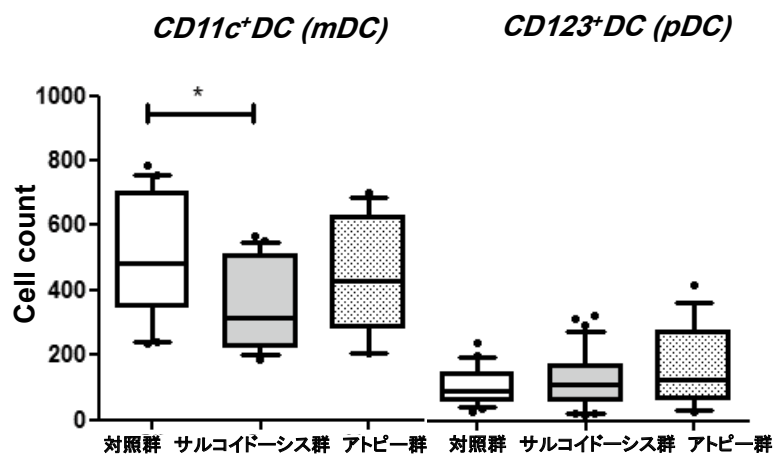
サルコイドーシス群の CD1a⁺mDC, CD1a⁻mDC 細胞数は, それぞれ 238.5 (139.8, 362.8), 79.0 (44.5, 135.0) で, 対照群の細胞数 (それぞれ 351.0 (217.0,

表 2 各群の樹状細胞サブセットの比較

	対照群 (n=23)	サルコイドーシス群 (n=30)	アトピー群 (n=23)
総数	908.0 (661.8, 1097.0)	632.5* (460.0, 941.0)	1100.0 (922.6, 1279.0)
CD11c ⁺ DC (mDC)	481.0 (352.0, 700.0)	320.0* (226.0, 509.0)	457.0 (284.0, 628.3)
CD123 ⁺ DC (pDC)	90.0 (62.8, 143.5)	110.5 (62.5, 168.5)	127.0 (68.0, 268.0)
CD1a ⁺ mDC	351.0 (217.0, 462.0)	238.5 (139.8, 362.8)	215.0* (118.0, 279.0)
CD1a ⁻ mDC	92.5 (53.5, 144.5)	79.0 (44.5, 135.0)	205.0* (93.0, 324.5)
CD141 ⁻ mDC	223.0 (167.0, 355.5)	179.0 (126.0, 310.0)	232.0 (142.0, 299.0)
CD141 ⁺ mDC	90.5 (52.3, 265.3)	116.5 (66.5, 166.3)	261.0* (81.5, 361.3)

* : P<0.05

データは白血球 200,000 カウントあたりの樹状細胞数を, 中央値 (四分位範囲) で表記した. 統計学的解析には Kruskal-Wallis 法を用い, posthoc 解析は Dunn's test を用い, p<0.05 を統計学的有意差とした.



*: P<0.05

図 2 myeloid DC (mDC) と plasmacytoid DC (pDC) サブセットの比較
CD11c⁺DC (mDC) サブセットは, サルコイドーシス群で減少していた (P<0.05).
CD123⁺DC (pDC) サブセットは, 3 群間で有意差はなかった. データは白血球 200,000
カウントあたりの DC 数で表記した.

462.0), 92.5 (53.5, 144.5) と同等で差がなかった (図 4). 一方で, アトピー群の CD1a⁺mDC 数は 215.0 (118.0, 279.0) で, 対照群 351.0 (217.0, 462.0) と比較して有意に少なかった (P<0.05).

CD1a⁻mDC 数は, アトピー群で 205.0 (93.0, 324.0)

と, サルコイドーシス群 92.5 (53.3, 144.5) や対照群 79.0 (44.5, 135.0) と比較し, 有意に多かった (いずれも P<0.05). CD1a⁺/CD1a⁻mDC 比は, サルコイドーシス群と対照群との間に有意差はなかったが, アトピー群では, 対照群, サルコイドーシス群のいずれと比べて

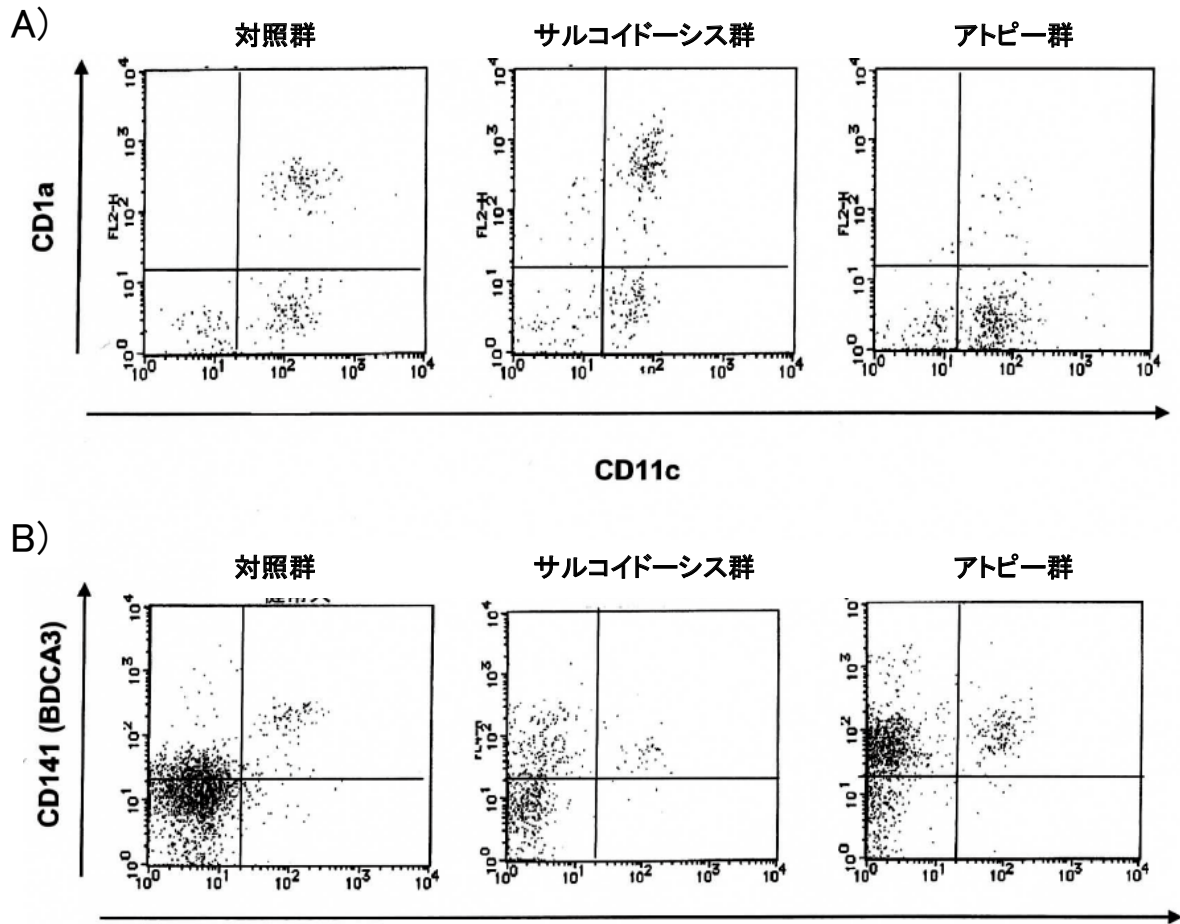
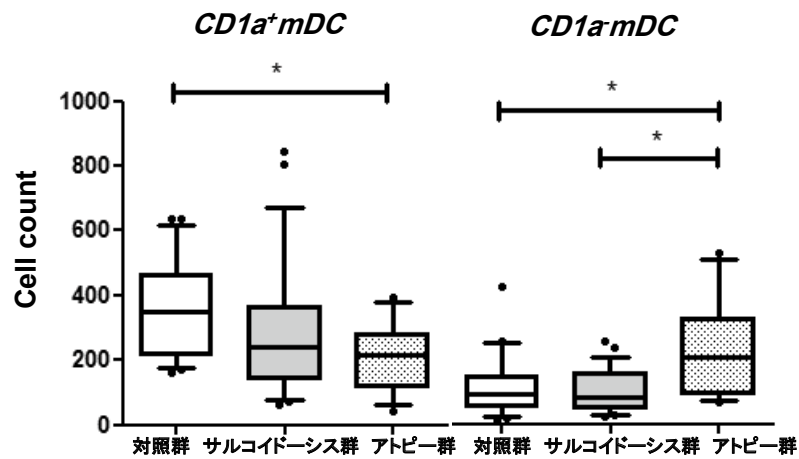


図3 CD1a⁺mDC と CD1a⁻mDC サブセットの比較

CD1a⁺mDC, CD1a⁻mDC の代表的なデータを示す (A). CD11c⁺CD1a⁺細胞は、対照群、サルコイドーシス群と比較し、アトピー群で減少している。CD141⁺mDC, CD141⁻mDC の代表的なデータを示す (B). CD123⁻CD141⁺細胞は、健常人と比較してアトピー群で増加している。



*: P<0.05

図4 CD1a⁺mDC と CD1a⁻mDC サブセットの比較

CD1a⁺mDC サブセットは、アトピー群で減少していた (P<0.05)。CD1a⁻mDC サブセットは、アトピー群で、対照群やサルコイドーシス群と比べて有意に増加していた (いずれも P<0.05)。データは白血球 200,000 カウントあたりの DC 数で表記した。

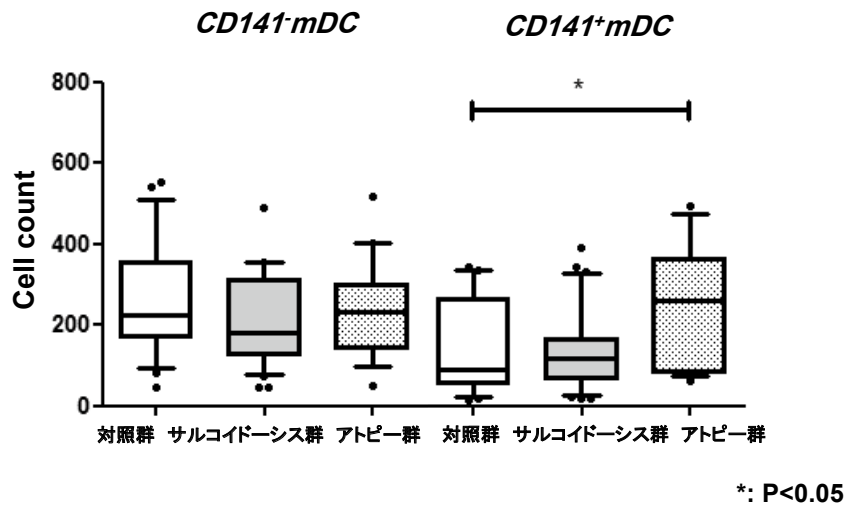


図6 CD141⁻mDCとCD141⁺mDCサブセットの比較
CD141⁻mDCサブセットは、3群間で有意差はなかった。一方、CD141⁺mDCサブセットは、アトピー群で有意に大きかった (P<0.05)。

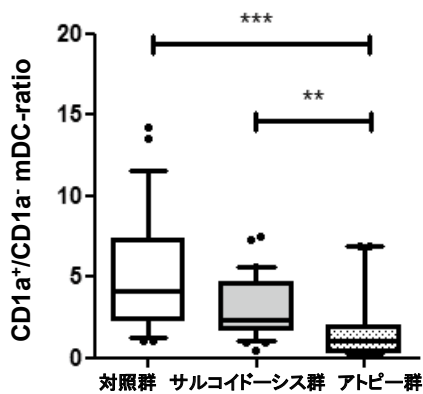


図5 CD141⁺mDC/CD141⁻mDC比
CD141⁺mDC/CD141⁻mDC比は、アトピー群で、対照群、サルコイドーシス群と比べ、有意に小さかった (それぞれP<0.001, P<0.01)。

も有意に小さかった (それぞれP<0.001, P<0.01, 図5)。

3. CD141⁺mDCサブセット

CD141⁻mDCの数は3群間で有意差はなかった (図6)。一方、CD141⁺mDCの数は、アトピー群で261.0 (81.5, 361.3) と、対照群90.5 (52.3, 265.3) と比べて有意に大きかった (P<0.05, 図6)。CD141⁻/CD141⁺mDC比は、アトピー群、サルコイドーシス群のいずれも対照

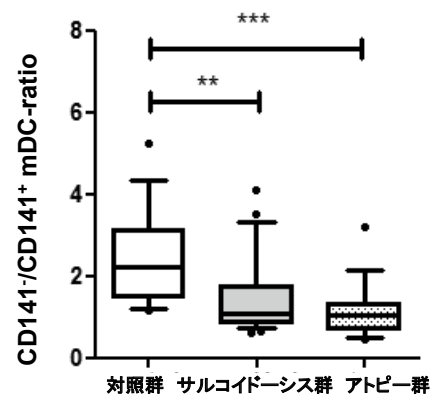


図7 CD141⁻mDC/CD141⁺mDC比
CD141⁻mDC/CD141⁺mDC比は、アトピー群、サルコイドーシス群で有意に小さかった (それぞれP<0.005, P<0.01)。

群と比べて有意に小さかった (それぞれP<0.001, P<0.01, 図7)。

4. 各mDCサブセットにおけるIL-12産生量の比較

FACSで分取して得た各mDCサブセットが産生するIL-12p40の測定結果を、表3に示す。CD141⁺mDCが産生したIL-12p40は(17.3±3.1pg/mL)、CD141⁻mDC(7.8±1.9pg/mL)、CD141⁺mDC(6.9±0.8pg/mL)と比べ、有意に高値であった (P=0.025, P=0.018, 図7)。

表3 樹状細胞サブセットによる IL-12 産生能

	CD1a ⁺ mDC	CD1a ⁻ mDC	CD141 ⁻ mDC	CD141 ⁺ mDC
IL-12p40 (pg/mL)	17.3±3.1	7.8±1.9	9.3±0.8	6.9±0.8
(range)	(10.1 - 27.2)	(5.9 - 10.8)	(7.3 - 11.8)	(4.0 - 8.5)

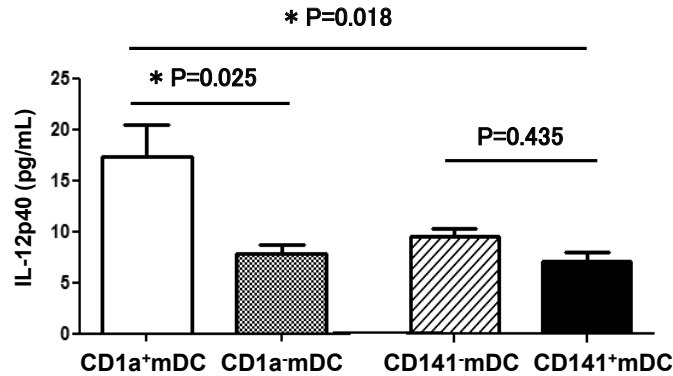


図8 各 DC サブセットの IL-12p40 産生能の比較

フローサイトメトリーで分取した CD1a⁺mDC は、CD1a⁻mDC や CD141⁺mDC と比べて、有意に高い濃度の IL-12p40 の産生能を示した (それぞれ P=0.025, P=0.018). CD141⁻mDC と CD141⁺mDC では、IL-12p40 の産生能に有意差は認めなかった。

CD141⁻mDC と CD141⁺mDC の比較では、CD141⁻mDC (9.3±0.8 pg/mL) で IL-12p40 の産生は高い傾向にあったが、有意差はなかった (P=0.435)。

考 察

気管支喘息やアトピーなど Th2 優位と考えられる病態や、感染症や癌など Th1 優位と考えられる病態において、末梢血中の DC サブセットの検討が報告されてきた¹⁷⁻¹⁹⁾。これまでの報告の多くは mDC と pDC の数やバランスを論じるものであった。mDC に mDC1 と mDC2 の2つのサブタイプが存在すること²⁰⁾が報告されて以来、CD1c (BDCA-1) や CD1a を mDC1, CD141 (BDCA-3) を mDC2 のマーカーとして用いた検討が報告されている¹¹⁾。今回の研究では、CD1a を mDC1 のマーカー、CD141 を mDC2 のマーカーとして、Th1 関連疾患と考えられるサルコイドーシス、Th2 関連疾患と考えられるアトピー性疾患症例における末梢血中 DC サブセットの解析を行い、健常人と比較した。

サルコイドーシスは、原因不明の全身的肉芽腫性疾患である。上皮細胞、線維芽細胞、組織球/マクロファージで構成される非乾酪性肉芽腫を形成することが病理学的特徴であり、肺、皮膚、眼が高率に冒される。サルコイドーシスでは、肺の T 細胞からの IL-2, IFN- γ の分泌が高まっており²¹⁻²³⁾、肺実質からの T 細胞のクロー

ンの研究²⁴⁾ や、BALF の研究²⁵⁻²⁸⁾ により、サルコイドーシスが Th1 関連疾患であると考えられている。一方で、気管支喘息、アトピー性皮膚炎などのアトピー性疾患は、これまでの多くの臨床研究や遺伝子研究や動物実験モデルにより、Th2 関連疾患であると考えられている。

今回の結果から、サルコイドーシスでは末梢血中の DC 総数および mDC の数は健常人と比較して減少していた。これまでも、サルコイドーシス患者の末梢血中の DC 総数、mDC、pDC すべてが低下することや²⁹⁾、サルコイドーシスの末梢血では mDC 数は少ない傾向にある³⁰⁾ことが報告されており、われわれの結果とほぼ一致していた。サルコイドーシスで末梢血の DC 数が低下する理由として、肉芽腫へ DC が遊走、集簇することが考えられている。Ota らの報告では、サルコイドーシスの肉芽腫のリンパ球層に DC が多く集積していることが示されている²⁹⁾。

一方、今回の研究では、アトピー群の末梢血中 DC 総数、mDC、pDC の数および mDC/pDC 比は、対照群と比べて差がなかった。過去に、気管支喘息の患者の末梢血では DC の数が増加するという報告がある³¹⁾。また、気管支喘息患者にアレルゲンチャレンジを行うと、末梢血の mDC サブセットが急激に低下し³²⁾、気道上皮に DC が集簇する³³⁻³⁵⁾ことが報告されている。別の報告

では、アレルギー性気管支喘息の末梢血中では mDC が少ない傾向があり、pDC が有意に増加していた¹⁷⁾。今回の結果が既報と異なる原因の一つに、対象患者の喘息の病状の違いがあげられる。既報では気管支喘息患者に吸入によるアレルゲンチャレンジを行っているが、今回は未治療で安定している患者の血液検体を使用している。それゆえ、対照群との間に明確な差が生じなかった可能性が考えられる。実際に、Upham らの報告でも、アレルゲンチャレンジから 3 時間後が mDC の低下が最も著しく、24 時間後には依然低値ではあるものの回復傾向となっている³²⁾。

末梢血の mDC は、CD1a と CD141 の発現強度の差により、mDC1, mDC2 の 2 つのサブタイプに分類できると考えられているが、実際に患者検体を用いた検討は少ない。in vitro での検討は比較的多く行われており、その研究結果から、mDC1 は CD1c⁺mDC または CD1a⁺mDC, mDC2 は CD1a⁻mDC や CD141⁺mDC と考えられている。FACS で分取した CD141⁺mDC が Th2 反応を誘導し、DC2 としてアレルギー疾患に関与することが報告されている¹²⁾。また、Hata らは in vitro での実験系で、末梢血から精製した単核球を GM-CSF+IL-4 あるいは IL-3+IL-4 で分化、成熟させることで mDC1, mDC2 を作成し、さらに両者における CD1a の発現強度の違いから、CD1a が mDC1 のマーカーとなることを報告した⁹⁾。同様に単核球から精製した CD1a⁺mDC と CD1a⁻mDC が、それぞれ DC1, DC2 としての機能を有することを確認した報告もある¹⁰⁾。それらの結果に基づき、今回、われわれは mDC1 と mDC2 のマーカーとして CD1a と CD141 を用いた。

今回の研究で、サルコイドーシス群では末梢血 DC サブセットの mDC1 が優位となることを予想していたが、実際にはサルコイドーシスは、健常人と比べ、末梢血 CD1a⁺mDC および CD1a⁻mDC 細胞数、CD1a⁺/CD1a⁻mDC 比に差がなかった。また、CD141⁺mDC および CD141⁻mDC 細胞数も健常人と差はなかった。その理由として、サルコイドーシスでは末梢血中の免疫状態が必ずしも病勢を反映しない疾患であることが考えられる。サルコイドーシスの肉芽腫病変や気管支肺胞洗浄液中の CD4/8 比など免疫状態は、末梢血中とは異なることが知られている。今回は末梢血における DC サブセットの解析だが、末梢血と病変局所の DC の状態は必ずしも同様でない可能性が考えられた。

アトピー群の CD1a⁺mDC 数は、健常人と比較して有意に少なく、逆に CD1a⁻mDC 数は有意に増加していた。CD1a⁺/CD1a⁻mDC 比は、アトピー群で有意に小さかった。この結果は、アトピー性疾患においては mDC1

の減少が Th1/Th2 バランスを Th2 にシフトしている要因となっている可能性を示唆するものと考えられた。また、CD141⁺mDC, CD141⁻mDC の数には差がなかったが、CD141⁺mDC の数はアトピー群で増加しており、CD141⁻/CD141⁺比もアトピー群で有意に小さかった。これらの結果は、アトピー性疾患患者では、mDC1 に比して mDC2 が優位であり、末梢血の DC にこの病態が反映されていることを示している。

CD141 は、末梢血中で mDC のみでなく pDC にも発現がみられることが報告されており³⁶⁾、mDC2 の特異的なマーカーとなりうるのかどうかについては議論がある。しかし、今回の研究では CD141 を発現する mDC の数がアトピー群で有意に上昇しており、CD141 が mDC2 のマーカーとなりうる可能性が示された。

CD1a および CD141 が、末梢血中の mDC1 および mDC2 の妥当なマーカーであるか否かを確認するためには、それぞれのマーカーを発現する DC を分取し、Th1/Th2 への分化誘導機能を有するか確認する必要がある。しかし、このためには相当数の DC が必要となるため、臨床検体での検討は困難が多く、これまでにもほとんど報告がない。in vitro で単核球から培養して分化させた CD1a⁺mDC を用いた検討では、mDC1 の特徴である IL-12 産生能の高いことや、リンパ球との共培養によって Th1 を誘導しうることが証明されている¹⁰⁾。今回、末梢血より FACS で分取した CD1a⁺mDC が産生した IL-12p40 を調べた結果、CD1a⁻mDC と比べて有意に高値であった。これは CD1a が mDC1 サブセットのマーカーとなりうることを裏付けるデータであると考えられた。CD141⁺mDC についても、CD1a⁺mDC と比べて有意に IL-12p40 の産生が少ないことから、mDC2 のマーカーとなりうる可能性はあるものの、CD141⁻mDC と CD141⁺mDC では有意差がなかった。CD141 の mDC2 のマーカーとしての意義に関しては、今後更なる検討を要すると考えられた。

結 論

- ・ Th1 関連疾患と考えられるサルコイドーシスと、Th2 関連疾患と考えられる気管支喘息などのアトピー性疾患の末梢血の DC サブセットを解析した。
- ・ 両群の間には、mDC の総数、CD1a⁻mDC のサブセット、CD1a⁺/CD1a⁻mDC 比に差異を認め、Th1, Th2 極性における DC の関与が示唆された。
- ・ アトピー性疾患では、mDC1 の減少および mDC2 の増加が Th2 への偏倚の要因となっている可能性が示唆された。
- ・ CD1a⁺mDC による IL-12 の産生は、CD1a⁻mDC

や CD141⁺mDC と比べて有意に高く, CD1a の mDC1 のマーカーとしての妥当性が示唆された。

謝 辞 稿を終えるにあたり, 本研究のご指導を賜りました獨協医科大学 呼吸器・アレルギー内科 福田健教授, 石井芳樹教授に深甚なる感謝の意を表します。また, ご協力頂いた鈴木みつ美氏, ならびに当教室員の皆様に深謝致します。

文 献

- Steinman RM : The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* **9** : 271-296, 1991.
- Banchereau J, Steinman RM : Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* **392** : 245-252, 1998.
- Sato K, Fujita S : Dendritic cells-nature and classification. *Allergol Int* **56** : 183-191, 2007.
- Hart DN : Dendritic cells : unique leukocyte population which control the primary immune response. *Blood* **90** : 3254-3287, 1997.
- Ito T, Liu YJ, Kadowaki N : Functional diversity and plasticity of human dendritic cell subsets. *Int J Hematol* **81** : 188-196, 2005.
- Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, et al : Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science* **283** : 1183-1186, 1999.
- Moser M, Murphy KM : Dendritic cell regulation of T_H1-T_H2 development. *Nature Immunol* **3** : 199-205, 2000.
- Ebner S, Hofer S, Nguyen VA, et al : A novel role for IL-3 : human monocytes cultured in the presence of IL-3 and IL-4 differentiate into dendritic cells that produce less IL-12 and shift Th cell responses toward a Th2 cytokine pattern. *J Immunol* **168** : 6199-6207, 2002.
- Hata M, Takahara S, Tsuzaki H, et al : Expression of Th2-skewed pathology mediators in monocyte-derived type 2 of dendritic cells (DC2). *Immunol Lett* **126** : 29-36, 2009.
- Chang CC, Wright A, Punnonen J : Monocyte-derived CD1a⁺ and CD1a⁻ DC subsets differ in their cytokine production profiles, susceptibilities to transfection, and capacities to direct Th cell differentiation. *J Immunol* **165** : 3584-3591, 2000.
- Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, et al : BDCA-2, BDCA-3 and BDCA-4 : three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J Immunol* **165** : 6037-6046, 2000.
- Yerkovich ST, Roponen M, Smith ME, et al : Allergen-enhanced thrombomodulin (blood dendritic cell antigen 3, CD141) expression on dendritic cells is associated TH2-skewed immune responses. *J Allergy Clin Immunol* **123** : 209-216, 2009.
- Jongbloed SL, Kassianos AJ, McDonald KJ, et al : Human CD141⁺ (BDCA-3) + dendritic cells (DCs) represent a unique myeloid DC subset that cross-presents necrotic cell antigens. *J Exp Med* **207** : 1247-1260, 2010.
- JASOG criteria, Report of Research Project 'Diffuse Lung Diseases' supported by Ministry of Public Welfare, 160-162, 1989 (in Japanese)
- Wurm K, Reindell H, Heilmeyer L : *Der Lun fenboek in Rontgebild*. Stuttgart : George Thieme, 1958.
- ATS/WASOG : Statement of sarcoidosis. *Sarcoid Vasc Diffuse Lung Dis* **16** : 147-173, 1999.
- Matsuda H, Suda T, Hashizume H, et al : Alternation of balance between myeloid dendritic cells and plasmacytoid dendritic cells in peripheral blood of patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **166** : 1050-1054, 2002.
- Perrot I, Blanchard D, Freqymond N, et al : Dendritic cells infiltrating human non-small cell lung cancer are blocked at immature stage. *J Immunol* **178** : 2763-2769, 2007.
- Almeida M, Cordero M, Almeida J, et al : Different subsets of peripheral blood dendritic cells show distinct phenotypic and functional abnormalities in HIV-1 infection. *AIDS* **19** : 261-271, 2005.
- Autissier P, Soulas C, Burdo TH, et al : Evaluation of a 12-color flow cytometry panel to study lymphocyte, monocyte, and dendritic cell subsets in humans. *Cytometry A* **77** : 410-419, 2010.
- Pinkston P, Bitterman P, Crystal R : Spontaneous release of interleukin-2 by lung T lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis. *N Engl J Med* **308** : 793-800, 1983.
- Robinson B, Mclemore T, Crystal R : Gamma interferon is spontaneously released by alveolar macrophage and lung T lymphocytes in patients with pulmonary sarcoidosis. *J Clin Invest* **75** : 1488-1495, 1985.
- Prior C, Knight R, Herold M, et al : Pulmonary sarcoidosis : patterns of cytokine release *in vitro*. *Eur Re-*

- spir J **9** : 47-53, 1996.
- 24) Bümer I, Zissel G, Schlaak M, et al : Th1/Th2 cell distribution in pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* **16** : 171-177, 1997.
 - 25) Hoshino T, Itoh K, Gouhara R, et al : Spontaneous production of various cytokines except IL-4 from CD4+ T cells in the affected organs of sarcoidosis patients. *Clin Exp Immunol* **102** : 399-405, 1995.
 - 26) Garlepp M, Rose A, Dench J, et al : Clonal analysis of lung and blood T cells in patients with sarcoidosis. *Thorax* **49** : 577-585, 1994.
 - 27) Walker V, Braum W, Menz G, et al : Activated T cells and cytokines in bronchoalveolar lavages from patients with various lung diseases associated with eosinophilia. *Am J Respir Crit Care Med* **150** : 1038-1048, 1994.
 - 28) Moller D, Forman J, Liu M, et al : Enhanced expression of IL-12 associated with Th1 cytokine profiles in active pulmonary sarcoidosis. *J Immunol* **156** : 4952-4960, 1996.
 - 29) Ota M, Amakawa R, Uehira K, et al : Involvement of DCs in sarcoidosis. *Thorax* **59** : 408-413, 2004.
 - 30) Mathew S, Bauer KL, Fiscoeder A, et al : The Anergic State in Sarcoidosis Is Associated with Diminished Dendritic Cell Function. *J Immunol* **181** : 746-755, 2008.
 - 31) Spears M, Mcsharry C, Donnelly I, et al : Peripheral blood dendritic cell subtypes are significantly elevated in subjects with asthma. *Clin Exp Allergy* **41** : 665-672, 2011.
 - 32) Upham JW, Denburg JA, O'Byrne PM : Rapid response of circulating myeloid dendritic cells to inhaled allergen in asthmatic subjects. *Clin Exp Allergy* **32** : 818-823, 2002.
 - 33) Bellini A, Vittori E, Marini M, et al : Intraepithelial dendritic cells and selective activation of Th2-like lymphocytes in patients with atopic asthma. *Chest* **103** : 997-1005, 1993.
 - 34) Jahnsen FL, Moloney ED, Hogan T, et al : Rapid dendritic cell recruitment to the bronchial mucosa of patients with atopic asthma in response to local allergen challenge. *Thorax* **56** : 823-826, 2001.
 - 35) Möller GM, Overbeek SE, Van Helden-Meeuwse CG, et al : Increased numbers of dendritic cells in the bronchial mucosa of atopic asthmatic patients : down regulation by inhaled corticosteroids. *Clin Exp Allergy* **26** : 517-524, 1996.
 - 36) Bratke K, Lommtzsch M, Julius P, et al : Dendritic cell subsets in human bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen challenge. *Thorax* **62** : 168-175, 2007.