

TSLP directly interacts with skin-homing Th2 cells highly expressing its receptor to enhance IL-4 production in atopic dermatitis

|       |                                                                                                           |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: jpn<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2017-10-03<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 龍野, 一樹<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/3207">http://hdl.handle.net/10271/3207</a>                           |

博士（医学） 龍野 一樹

## 論文題目

TSLP directly interacts with skin-homing Th2 cells highly expressing its receptor to enhance IL-4 production in atopic dermatitis

（TSLP とその受容体を高発現する皮膚ホーミング Th2 細胞の相互作用はアトピー性皮膚炎において IL-4 の産生を増加させる）

## 論文の内容の要旨

### 〔はじめに〕

Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) はアトピー性皮膚炎 (AD) の表皮で強く発現している上皮由来サイトカインの一つであり、樹状細胞への作用を介した T helper 2 (Th2) 反応の促進作用があることが近年解明された。様々なアレルギー性疾患の病態に大きく寄与していることが明らかになりつつある一方で、TSLP の詳しい作用機序や各病態における詳細な役割などに関しては未解明なことも多い。TSLP 受容体 (TSLPR) は通常の T 細胞では発現が弱いため、TSLP と T 細胞との関わりについての研究は少なく、アレルギー疾患における TSLP と T 細胞の関連についての報告は非常に少ない。このような背景の中、AD の病態における T 細胞を介した TSLP の役割について研究を行った。

### 〔患者ならびに方法〕

浜松医科大学皮膚科通院中の AD 患者 51 人と健常者 7 人を対象に研究解析を行った。患者血液より末梢血単核細胞 (PBMC) を回収し、フローサイトメトリー (FACS) にて  $CD4^+$ T 細胞における TSLP 受容体 (TSLPR) の発現を解析した。また、これら  $CD4^+$ TSLPR<sup>+</sup>細胞の免疫表現型についても詳細に解析を行った。次に、患者  $CD4^+$ T 細胞における TSLPR の発現度合と AD の既存病勢マーカー（末梢血好酸球数、IgE 値、TARC 値など）との相関について検証を行った。さらに、患者 PBMC より磁気細胞分離にて単離した  $CD4^+$ T 細胞を抗 CD3/CD28 microbeads 刺激、rhIL-2、rhIL-4 存在下などで培養し、TSLPR の発現に関わる因子につき検証を行った。同時に、rhTSLP 存在下にて患者  $CD4^+$ T 細胞を培養し、IL-4 産生能への影響、IL-4 産生  $CD4^+$ T 細胞の増殖能に対する作用、さらには CCR4、IL-2 受容体 (IL-2R)、IL-4 受容体 (IL-4R)、 $\gamma$ -c 受容体 ( $\gamma$ -cR) の発現への作用を検証した。本検討は浜松医科大学倫理委員会の承認を受けて行った（承認番号 25-166）。

### 〔結果〕

アトピー性皮膚炎患者と健常人の末梢血を解析したところ、患者  $CD4^+$ T 細胞における TSLPR 発現は健常人と比較し有意に高いことがわかった。詳細な免疫表現型を FACS にて解析したところ、これら TSLPR 陽性細胞は CCR4、CLA、CCR10 などを発現していることが観察された。

次に、患者  $CD4^+$ T 細胞における TSLPR の発現レベルと AD の病勢マーカーである血中 TARC 値、IgE 値、好酸球数などとの関係につき検証を行ったところ、これらのマーカーと正の相関を持つことが判明した。さらに、入院加療を要し

た4人のAD患者において、治療前後における末梢血CD4<sup>+</sup>T細胞のTSLPR発現レベルを比較したところ、加療後では有意にTSLPR発現レベルが低下していることが観測された。

ヒトT細胞におけるTSLPRの発現機序は完全には解明されていないが、TCR刺激によりTSLPR発現が高まることが以前の研究から明らかとなっていた。実際、抗CD3/CD28 microbeadsで刺激をすると、TSLPRの発現が高まることが観察されたが、刺激6日目以降はTSLPRの発現は低下し、TCR刺激では一過性にTSLPR発現が誘導されることが観測された。一方で、rhIL-4存在下ではTSLPRの発現が6日目以降も上昇が続き、TCR刺激非存在下においてもTSLPR発現を増加させる作用があることも判明した。

次に、単離した患者CD4<sup>+</sup>T細胞をrhTSLP、rhIL-2、rhIL-4などの存在下で14日間培養し、その間のCCR4発現を検証した。結果、rhTSLP添加群においてCCR4の発現が顕著に高まることがわかった。この作用はrhIL-2やrhIL-4と比べ有意に強いことが示された。また、rhIL-4とrhTSLP存在下で14日間培養したCD4<sup>+</sup>T細胞の増殖能をcarboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE) cell proliferation assayにて検証したところ、rhTSLP存在下で培養されたCD4<sup>+</sup>T細胞はrhIL-4添加群に比べIL-4産生細胞の増殖率が有意に高まることも観測された。さらに、TSLPはCD4<sup>+</sup>T細胞におけるIL-4R、IL-2R、 $\gamma$ -cRなどのサイトカイン受容体の発現を高める効果があることも判明した。

また、rhTSLP存在下で刺激を加えた患者CD4<sup>+</sup>T細胞の培養上清内IL-4をcytometric bead assay (CBA)にて測定したところ、AD患者由来のCD4<sup>+</sup>T細胞ではTSLP存在下でIL-4の産生が高まり、正常個体から単離したCD4<sup>+</sup>T細胞ではIL-4の産生は増強されることが判明した。患者由来CD4<sup>+</sup>T細胞で観察されたこの現象は添加されたrhTSLPの濃度に依存して高まり、抗TSLP抗体によりIL-4産生量が低下したことから、患者由来CD4<sup>+</sup>T細胞で観測されたTSLPRの発現が、IL-4の産生増強に寄与していることが示唆された。

#### [考察]

本研究を通し、ADではT細胞上のTSLPR発現が高まっていることが判明し、その背景にはADの病態に強い関わりを有するIL-4の持続的な刺激があることがわかった。IL-4はケラチノサイトに作用することでTSLPの産生を誘導することがこれまでの報告からわかっている。今回の研究を通し、TSLPはAD患者T細胞に直接作用することでIL-4の産生を増強させる機能を有していることが判明した。同時に、TSLPはT細胞のIL-4に対する感受性を高める作用があることもわかった。これらのことから、TSLPはAD患者T細胞を介し、本疾患特有の慢性的なTh2反応の形成に寄与している可能性が示唆された。

#### [結論]

ADにおいて、TSLPは樹状細胞などを介することなく、直接T細胞に作用することが可能であり、IL-4の産生を高める方向に働くことがわかった。