



Title	Reduced expression and functional impairment of Toll-like receptor2 on dendritic cells in chronic hepatitis C virus finfection
Author(s)	薬師寺, 崇行
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/46371
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	薬師 崇行
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20176 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科先端応用医学専攻
学位論文名	Reduced expression and functional impairment of Toll-like receptor 2 on dendritic cells in chronic hepatitis C virus infection (慢性 C 型肝炎ウイルス感染における樹状細胞の Toll-like receptor 2 の発現低下と機能障害)
論文審査委員	(主査) 教授 林 紀夫 (副査) 教授 門田 守人 教授 松浦 善治

論文内容の要旨

[目的]

C型肝炎ウイルス (HCV) は慢性肝疾患の主要な原因の一つである。HCV の排除には強い Th1 型の免疫応答が必要であると考えられている。我々は生体内で最も強力な抗原提示細胞である樹状細胞 (DC) に着目し、HCV 感染患者から得られた単球由来樹状細胞 (MDDC) の allogeneic な CD4 陽性 T 細胞増殖能が非感染者に比して有意に低下していることを既に報告している。Toll 様受容体 (TLR) は病原体に特異的な分子パターンを認識し、自然免疫から獲得免疫へと誘導する重要な役割を有している。TLR は現在 10 種あるいは 11 種知られており、DC は各 TLR をサブセット特異的に発現している。様々なウイルスに関して、ウイルスあるいはウイルス由来蛋白が TLR あるいはその下流のシグナル伝達系を修飾することが報告されており、HCV 感染においても同様の機序が存在することが考えられるが、その詳細については明らかではない。そこで、MDDC の TLR2、TLR3 および TLR4 に着目し、その発現と機能を解析することによって、HCV 感染における DC の TLR の役割を明らかにすることを目的とした。

[方法と成績]

30 例の HCV 感染患者および 32 例の非感染者より得た末梢血単核球から単球を分離し、GM-CSF および IL-4 の存在下に 7 日間培養することによって MDDC へと分化誘導させた。MDDC における TLR2、TLR3 および TLR4 の発現を real-time RT-PCR 法を用いて定量した。TLR2 に対しては Pam3CSK4 を、TLR3 に対しては poly (I : C) を、TLR4 に対しては大腸菌由来の LPS を特異的リガンドとして用いて MDDC を成熟させ、このときの成熟マーカー (CD80、CD86、CD83) の発現をフローサイトメトリー法を用いることによって解析した。各 TLR の特異的リガンドによる炎症性サイトカインの産生誘導については、刺激後 24 時間の培養上清中の IL-12p70、IL-6、IL-10 および TNF- α の濃度を ELISA 法を用いて定量することによって検討した。また、IFN- β については刺激後 3 時間の MDDC から RNA を抽出し、real-time RT-PCR 法を用いて定量した。MDDC の T 細胞増殖能については、各 TLR の特異的リガンドによって 6 時間刺激した MDDC を allogeneic な CD4 陽性 T 細胞と共培養し、5 日後の ^3H -チミジン取り込み量を測定することによって検討した。

TLR2の発現は非感染者に比し、HCV感染患者において有意に低下していた。一方、TLR3およびTLR4の発現は両者の間で有意差を認めなかった。各TLRの発現とHCV感染における臨床的マーカーであるHCVウイルス量および血中ALTレベルとの間には有意な相関を認めなかった。MDDCの成熟マーカーであるCD80、CD86およびCD83の発現は、各TLRの特異的リガンド刺激により、未成熟なMDDCに比して有意に増加した。これらの成熟マーカーの発現はHCV感染患者と非感染者の間で有意差を認めなかった。各TLRの特異的リガンドによってIL-10、IL-6およびTNF- α の産生が誘導された。IL-12p70の産生およびIFN- β の誘導はTLR3の特異的リガンドによってのみ強く誘導された。これらのサイトカインの産生誘導についてはHCV感染患者と非感染者の間で有意差を認めなかった。TLR2およびTLR4の特異的リガンドによって刺激したMDDCのT細胞増殖能は無刺激のMDDCのT細胞増殖能に比して有意に増強したが、TLR2の特異的リガンドによって刺激したMDDCのT細胞増殖能は非感染者に比してHCV感染患者において有意に低下していた。

[総括]

MDDCにおけるTLR2の発現は非感染者に比し、HCV感染患者において有意に低下していた。また、TLR2を刺激したMDDCのallogeneicなCD4陽性T細胞増殖能は非感染者に比し、HCV感染患者において有意に低下していた。一方、MDDCのTLR3およびTLR4の発現と機能についてはHCV感染患者においても保持されていた。HCV感染においては、TLR2を介したMDDCの機能修飾が病態形成に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

C型肝炎ウイルスは慢性肝疾患の主要な原因の一つである。その持続感染の機序としてはウイルスに対する不十分な免疫応答が考えられる。本論文では、生体内で最も強力な抗原提示細胞である樹状細胞のToll様受容体に着目し、単球由来樹状細胞の代表的なToll様受容体であるTLR2、TLR3およびTLR4について、その発現と機能の検討を行っている。その結果、C型肝炎ウイルス感染患者においては、TLR2の発現が非感染者に比して低下しており、また、TLR2を介して刺激した単球由来樹状細胞のT細胞増殖能は、無刺激の単球由来樹状細胞に比して増強効果を示すものの、非感染者に比して低下していることが示された。本論文によって、C型肝炎ウイルス感染の病態形成にTLR2を介した樹状細胞の機能修飾が関与している可能性が示され、本論文が学位の授与に値するものと考えられる。