

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 村尾 尚規

学位論文題名

ケロイドにおける制御性 T 細胞

【背景と目的】

ケロイドは真皮線維芽細胞の増殖，コラーゲン産生を主体とする皮膚良性腫瘍である。ケロイドは炎症性疾患，線維化疾患としての側面を持ち，T 細胞などの炎症細胞が病態に関与すると考えられている。ケロイド真皮内には CD4+ T 細胞が多く浸潤しているが，ケロイド線維芽細胞との相互作用の詳細は不明である。

CD4+ T 細胞は制御性 T 細胞 (regulatory T cell : Treg) と Th1、Th2、Th17 の effector T 細胞 (Teff) に分類される。Teff は免疫反応を亢進し，Treg は免疫反応を制御する。Treg は他の Teff を抑制し，両者の持続的バランスが炎症，アレルギー性疾患の発症，病態を決定する。Treg は TGF- β の刺激により特異的な転写因子である forkhead box P3 (FOXP3) が誘導され分化が促進するが，TGF- β と IL-6 で同時に刺激された場合，FOXP3 の誘導が抑制され，Th17 の誘導が促進される。したがって，Treg，Th17 の両者の関係が特に免疫バランスに反映される。Treg の減少による免疫バランスの破綻は全身性自己免疫疾患を発症させるが，近年，自己免疫疾患，炎症性の皮膚病変においても同様の免疫バランスの破綻が見られることが明らかになっている。また，Treg の増加が線維化を抑制するとの報告もある。

炎症性疾患，線維化疾患であるケロイド局所においても免疫バランスが破綻している可能性がある。また，ケロイド線維芽細胞は TGF- β や IL-6 を高産生することが明らかとなっており，免疫バランスに影響を与える可能性がある。本研究ではケロイドにおける免疫バランスと，ケロイド線維芽細胞と Treg の相互作用を解明することを目的とした。

【対象と方法】

ケロイド (n=14，体幹 7，耳介 7)，正常皮膚 (n=7，体幹 4，頭頸部 3)，瘢痕 (n=8，体幹 4，頭頸部 2，上肢 1，下肢 1)，浅達性 II 度熱傷 (n=6，体幹 3，上肢 2，下肢 1)，表皮嚢腫 (n=6，体幹 4，頭頸部 1，下肢 1) の組織を採取した。浅達性 II 度熱傷は上皮化後の組織を，表皮嚢腫は嚢腫上の皮膚を炎症性のサンプルとして検討対象とした。免疫染色により真皮に浸潤する Treg を同定し CD4+ T 細胞に占める Treg の比率や Th17/Treg 比率を比較検討した。また，IL-6 染色により，各サンプルの IL-6 発現を比較した。

ケロイド患者 (n=5)，正常人 (n=5) より得られた末梢血 CD4+ T 細胞を TGF- β で刺激し Treg を誘導し，FOXP3 誘導効率の差を検討した。また，CD4+ T 細胞を TGF- β ，IL-6 で同時に刺激し，FOXP3 の誘導抑制の有無について検討した。

採取した組織から培養したケロイド線維芽細胞と同一個体の末梢血から誘導，活性化した CD4+ T 細胞または Treg-enriched CD4+ T 細胞を間接共培養し (n=8)，両者の相互作用を検証した。共培養後のケロイド線維芽細胞および培養上清中の I 型コラーゲン，TGF- β ，IL-6 産生を mRNA，タンパクレベルで評価した。

【結果】

ケロイド内の CD4+ T 細胞浸潤は真皮浅層の血管周囲に多く見られた。ケロイド，浅達性Ⅱ度熱傷，表皮嚢腫のサンプルの真皮に浸潤する CD4+ T 細胞数は同程度であった。ケロイドの Treg/CD4+ T 細胞比率は正常，癩痕と同程度で，浅達性Ⅱ度熱傷，表皮嚢腫と比較して低下していた。Th17/Treg 比率はケロイドでは浅達性Ⅱ度熱傷，表皮嚢腫と比較して増加していた。ケロイド真皮に IL-6 の高発現を認めたが，他の炎症性皮膚病変でも IL-6 の発現を認めるものがあった。正常皮膚，癩痕では IL-6 の発現を認めなかった。

TGF- β で刺激したケロイド患者の末梢血 CD4+ T 細胞は正常人と同様に FOXP3 が発現し，FOXP3 の発現低下はなかった。CD4+ T 細胞を TGF- β ，IL-6 で同時に刺激した場合，ケロイド患者，正常人ともに FOXP3 の発現が低下した。

ケロイド線維芽細胞のコラーゲン産生は Treg-enriched CD4+ T 細胞との共培養では mRNA，タンパクレベル，CD4+ T 細胞との共培養では mRNA レベルで低下した。Treg-enriched CD4+ T 細胞および CD4+ T 細胞はケロイド線維芽細胞の TGF- β mRNA 発現を抑制した。一方，CD4+ T 細胞と共培養したケロイド線維芽細胞の IL-6 産生は mRNA，タンパクレベルで増加し，Treg-enriched CD4+ T 細胞との共培養においても同様の結果であった。

【考察】

同程度の炎症の皮膚病変と比較してケロイド真皮内の Treg/CD4+ T 細胞比率が低下していたことから，ケロイド内で免疫バランスの破綻が生じていると考えられた。ケロイド真皮内の Th17/Treg 比が他の皮膚炎症病変と比較して高いことから，免疫バランスの破綻に IL-6 が関与することが推測された。ケロイド患者 CD4+ T 細胞の FOXP3 誘導効率の低下はないため，免疫バランスの破綻は全身ではなくケロイド局所で生じていると考えられた。

Treg の抗線維化作用により，ケロイド線維芽細胞のコラーゲン産生を低下させることができた。免疫バランスの破綻により，実際のケロイド組織では線維化が亢進していると考えられた。一方，CD4+ T 細胞によって高まるケロイド線維芽細胞の IL-6 活性は，Treg を増加させても抑制することはできなかった。ケロイド線維芽細胞の IL-6 異常産生性，Treg 抵抗性が免疫バランスの破綻を生じさせる可能性がある。

局所で Treg を増加，活性化させ免疫バランスを維持することはケロイドに対する新たな治療アプローチとなる。免疫抑制剤や抗 IL-6 抗体薬などがケロイドに応用できる可能性がある。

【結論】

ケロイド内では Treg が減少し免疫バランスが破綻していると考えられた。免疫バランスの破綻は局所で生じており，ケロイド線維芽細胞が産生する IL-6 が関与している可能性がある。Treg はケロイド線維芽細胞の I 型コラーゲン産生を抑制する作用があり，免疫バランスを改善することはケロイドの予防や治療に応用できる可能性がある。