

図1 NNK T細胞とその合成リガンド

Vα14NK T細胞は、半可変性T細胞受容体を発現し、多型性のないCD1分子に提示される糖脂質を抗原として認識する。活性化に伴い、すみやかにサイトカインを産生し、さまざまな免疫調節に関与する。

疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE), コラーゲン関節炎(CIA)などの実験的自己免疫疾患を抑制できることが報告され、自己免疫疾患の新しい治療方向として期待されている^{9)~11)}。本稿では、自己免疫疾患動物モデルにおけるNK T細胞の関与・糖脂質による治療の試みについて紹介し、ヒトの自己免疫疾患におけるNK T細胞の関与についても概説する。

自己免疫疾患とNK T細胞

NK T細胞は、多発性硬化症(MS), I型糖尿病(T1D), 進行性全身性硬化症, 慢性関節リウマチ, 全身性エリテマトーデス, シェーグレン症候群などの自己免疫疾患の末梢血において、その数が減少していることが報告されている¹²⁾¹³⁾。また、これらの全身性自己免疫性疾患では、NK T細胞の代表的な糖脂質リガンドであるα-GCに対する反応が低下していることが報告された。また、I型糖尿病から樹立したNK T細胞クローンは、IFN-γ産生に傾いていると報告されており、NK T細胞が自己免疫疾患病態になんらかの形で関与することが推測されている(表1)。

MSでは荒木・山村らが、寛解期にあるMS患

表1 ヒト自己免疫疾患とNK T細胞

数の減少	全身性強皮症 多発性硬化症 I型糖尿病 全身性エリテマトーデス 慢性関節リウマチ(末梢血) (関節組織) シェーグレン症候群
機能変化	I型糖尿病 全身性強皮症 全身性エリテマトーデス 慢性関節リウマチ シェーグレン症候群 多発性硬化症

者では、健常人と比較して減少しているが、再発期にはNK T細胞の減少はむしろ軽度であることを報告している¹⁴⁾。この際、減少しているのはDN-NK T細胞であり、CD4⁺NK T細胞は寛解期、再発時ともに減少していなかった。サイトカイン産生に関しては、DN NK T細胞では寛解期にIL-4, IFN-γともに産生の低下がみられたが、CD4⁺NK T細胞では寛解期にむしろIL-4の産生亢進がみられた。実際に、自己免疫疾患において、NK T細胞がどのような機能を果たしているかについ

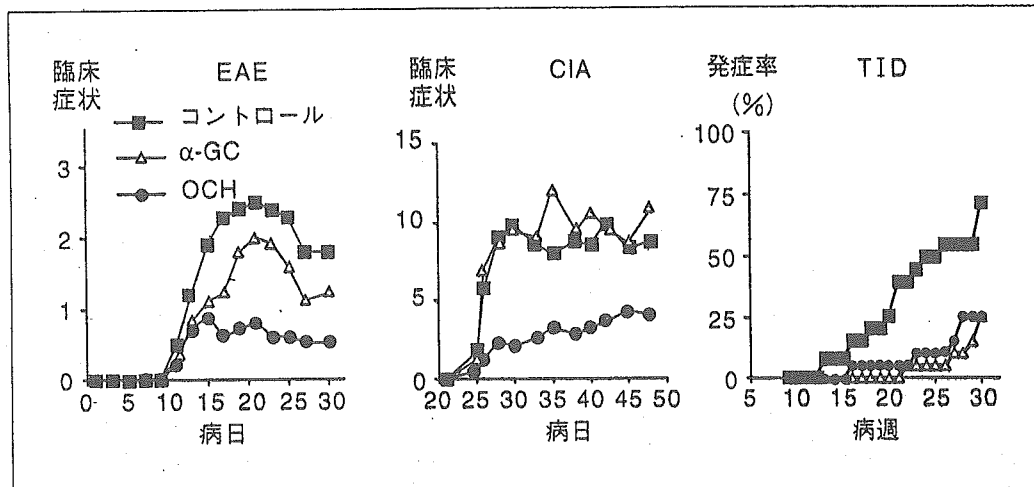


図2 合成糖脂質による自己免疫疾患モデル抑制効果

EAE：実験的自己免疫性脳脊髄炎，CIA：コラーゲン関節炎，T1D：NODマウスにおける糖尿
OCHは，EAE，CIA，T1DなどのTh1優位な自己免疫疾患モデルの病態を抑制する。

ては不明であるが，MS寛解期にはIFN- γ などのサイトカインを産生するDN-NK T細胞数が減少し，DN-NK T細胞から産生されるサイトカインも減少し，残存しているCD4⁺NK T細胞のIL-4産生能が上がっていることを考えると，MS寛解期においてNK T細胞は，疾患を抑制するように働いていることが推定される。

NK T細胞と自己免疫疾患モデル

1. 実験的自己免疫性脳脊髄炎

EAEは，難治性神経疾患である多発性硬化症の動物モデルで，Th1細胞が介在する自己免疫病である。EAEにおけるNK T細胞の役割は，NK T細胞の存在しないCD1ノックアウトの解析では，軽症化，不変，重症化と報告が分かっている。自験結果では，B6マウスにおけるMOG誘導のEAEにおいては，CD1もしくはJ α 281ノックアウトマウスでは不変もしくは軽度重症化する。糖脂質抗原によるNK T細胞活性化については，NK T細胞の代表的な糖脂質リガンドである α -GCは自験データではEAEを抑制しない。その後，マウスの系統によって差はあるが， α -GCもEAEを抑制するという報告もある。自験データでは，抑制サイトカイン・ノックアウトマウスなどを使った一連の解析の結果， α -GCがEAEに無効である理由は，NK T細胞にTh1抑制的なIL-4だけでなくTh1促進的なIFN- γ の産生を促すためであると考えられた。そこで，NK T細胞にIL-4だけを産生させることがで

きれば，EAEは抑制できると考え，NK T細胞に選択的にIL-4産生を促してEAEを抑制するような糖脂質を探索し， α -GCのスフィンゴシン鎖の短縮体であるOCHがこのような性質をもつことがわかった⁹⁾。その選択的なIL-4誘導能に一致して，OCHをEAE誘導時に経口投与するとEAEは強く抑制された(図2)。また，OCH投与群では免疫源であるMOGペプチド₃₅₋₅₅に対する抗体のアイソタイプを測定すると，抗MOG₃₅₋₅₅ IgG1が選択的に上昇しており，MOG₃₅₋₅₅に対する自己免疫応答がOCHによりTh2にシフトしていた。抗IL-4抗体による中和実験とIL-4ノックアウトマウスを使った実験の結果，OCHと抗IL-4抗体を同時投与するとEAEの抑制はみられなくなり，またIL-4ノックアウトマウスではOCHのEAE抑制効果がみられないことから，OCHのEAE抑制にはIL-4が重要な役割を果たすことが明らかになった⁹⁾。EAEでは， α -GCによる抑制効果については報告が一致しないが，OCHなどのリガンドを使ってNK T細胞を適切に活性化することにより，EAEは抑制される。

2. NODマウスにおける糖尿病

I型糖尿病(T1D)の自然発症モデルとして汎用されているNODマウスでは，NK T細胞の数の減少，活性化によるサイトカイン産生能の不良など，NK T細胞の異常が指摘され，自己免疫病態とNK T細胞の関連がもっとも精力的に研究されてきた。糖尿病との関連では，NODマウスに，NK T細胞を移入したり，V α 14-J α 281受容体遺伝

子を導入してNK T細胞を増加させると糖尿病発症を抑制することが報告された。また、CD1をトランスジーンにより高発現させると、糖尿病が抑制させることが報告されている¹⁵⁾。また、CD1ノックアウトマウスでは糖尿病が増悪することからNK T細胞が糖尿病発症に抑制的に働くことが示唆された。さらに、 α -GCを投与すると、膵島抗原に対する反応がTh2偏倚を起こし、NODマウスにおける糖尿病発症を抑制することが報告され、NK T細胞の適切な刺激が疾患抑制作用をもつことが明らかとなった¹⁴⁾。自験データでも、4週ないし、8週からOCHないし、 α -GCの投与を開始すると、いずれの場合においても糖尿病の発症はコントロール群に比較して、著明に抑制された¹⁶⁾(図2)。また、膵島炎も抑制されていた。 α -GCによる抑制機序にはIL-4, IL-10が重要で、自己抗原反応性T細胞のTh2偏倚を伴うと報告されているが、IL-10の関与については異論もある¹⁷⁾。

3. 関節炎

慢性関節リウマチの動物モデルであるCIAは、Th1細胞が病態増悪に関与し、IL-4, IL-10などのTh2サイトカインが病態抑制につながることを報告されている。肝単核球もしくは末梢血中のNK T細胞はCIAのピーク時には増加する。CD1もしくは、NK Tノックアウトマウスでは、CIAの臨床症状は軽快する。また、DBA1におけるCIAでは抗CD1抗体で病態が軽快する。いずれにおいても、タイプIIコラーゲンに対する抗体のアイソタイプでは、IgG1/IgG2a比がコントロール群に対して上昇していることから、自己抗原反応性T細胞のTh2シフトが起こっていると考えられる。CIAでは、NODマウスとは異なり、自然経過においてはNK T細胞は病態悪化に関与しているようである。異なる関節炎モデルである抗体誘導性関節炎も、CD1ノックアウト、NK Tノックアウトマウスでは症状が軽いことから、自己抗原反応性のT細胞のTh1/Th2反応の変化以外にも、炎症に関与して病態悪化を起こしている可能性があることが示唆される¹⁸⁾。糖脂質の効果としては、 α -GC投与でCIAは抑制されなかったが、OCH投与群では臨床スコアは強く抑制された⁵⁾(図2)。病理所見でも、炎症細胞浸潤は著明に抑制され、軟骨・骨病変も抑制されていた。OCHによるCIA

の抑制効果は、抗IL-4抗体、もしくは抗IL-10抗体の同時投与によるIL-4、もしくはIL-10の中和によって消失したことから、OCHによるCIAの抑制には、IL-4, IL-10が重要であることがわかった。

4. ループスモデル

MRL-*lpr/lpr*マウスはループス様病変を自然発症するループスモデルとして知られているが、CD1dテトラマー陽性のNK T細胞数が、BALB/c, C3H, C57BL6などほかの系統のマウスと比較すると少なく、NODマウスなどとともに、自己免疫発症にNK T細胞が関与することが推定されてきた。 α -GCを投与すると皮膚病変は軽減するという報告があるが、腎病変については記載がない。

NZB/NZW F1マウスも、ループス様病変を自然発症する。このマウスでは、抗CD1d抗体の投与で腎症の発症が遅れ、また α -GC投与によって腎症発症が早まることから、NK T細胞は病態悪化に関与していると考えられる。

また、プリスタン投与によって誘導するループスモデルについては、プリスタン投与によって、NK T細胞数の減少、 α -GC投与によるサイトカイン産生が低下すること、CD1dノックアウトに誘導すると野生型に誘導した場合と比較して病態が増悪することが報告された。ループスモデルについては、NK T細胞の役割がモデル系によってかなり異なるようである。これは、これらループスモデルが前述のEAE, T1D, CIAなどのTh1優位な臓器特異的自己免疫疾患モデルと比較して病態が複雑で、サイトカインもTh1, Th2両細胞が病態に関与するためではないかと考えられる。

いずれのモデルにおいても、NK T細胞は病態へ関与しており、治療の標的となりうる重要な細胞である。

自己免疫モデルとNK T細胞についてのこれまでの報告を、表2にまとめておく。

おわりに

NK T細胞は、サイトカインの産生源としては、その種類と産生量から、ほかに類をみないほどの可能性をもつ細胞である。さらに最近では、選択的なサイトカイン産生を可能にするような

表2 自己免疫疾患モデルとNK T細胞

NODマウスにおける糖尿病	NK T細胞の数の減少 DN-NK T細胞移入による糖尿病抑制 V α 14J α 281トランスジェニックマウスにおける糖尿病抑制 CD1ノックアウトマウスにおける糖尿病悪化 α -GCによる糖尿病抑制 CD1トランスジェニックマウスにおける糖尿病抑制
実験的自己免疫性脳脊髄炎	OCHによる病態抑制 α -GCによる病態抑制 サルファタイドによる病態抑制
ループスモデル	MRL <i>lpr/lpr</i> , C57BL/6 <i>lpr/lpr</i> , (NZB/NZW) F1, C3H <i>gld/gld</i> におけるNK T細胞の数の減少 (NZB/NZW) F1における抗CD1抗体による病態改善
炎症性腸炎	α -GCによる病態抑制

リガンドの開発が行われるようになり、今後、実際の疾患治療にも応用されていくことが期待される。

ごく最近、NK T細胞の内因性抗原として、isoglobotrihexosylceramide (iGb3)が報告されたので、つけ加えておく¹⁹⁾。

文 献

- 1) Bendelac A, Rivera MN, Park S, et al. Mouse CD1-specific NK1 T cells. *Annu Rev Immunol* 1997 ; 15 : 535.
- 2) Brigl M, Brenner MB. CD1 : antigen presentation and T cell function. *Annu Rev Immunol* 2004 ; 22 : 827.
- 3) Taniguchi M, Harada M, Kojo S, et al. The regulatory role of V α 14NKT cells in innate and acquired immune response. *Annu Rev Immunol* 2003 ; 21 : 483.
- 4) Kawano T, Cui J, Koezuka Y, et al. CDd-restricted and TCR-mediated activation of Va4 NKT cells by glycosylceramides. *Science* 1997 ; 278 : 1626.
- 5) Joyce S, Woods AS, Yewdell JW, et al. Natural ligand of mouse CD1d1 : cellular glycosylphosphatidylinositol. *Science* 1998 ; 279 : 1541.
- 6) Wu DY, Segal NH, Sidobre S, et al. Cross-presentation of disialoganglioside GD3 to natural killer T cells. *J Exp Med* 2003 ; 198 : 173.
- 7) Rauch J, Gumperz J, Robinson C, et al. Structural features of the acyl chain determined self-phospholipid antigen recognition by a CD1d-restricted invariant NKT (iNKT) cell. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 47508.
- 8) Kawahara K, Moll H, Knirel YA, et al. Structural analysis of two glycosphingolipids from the lipopoly saccharide-lacking bacterium *Sphingomonas capsulata*. *Eur J Biochem* 2000 ; 267 : 1837.
- 9) Miyamoto K, Miyake S, Yamamura T. A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing Th2 bias of natural killer T cells. *Nature* 2001 ; 413 : 531.
- 10) Chiba A, Oki S, Miyamoto K, et al. Suppression of collagen-induced arthritis by natural killer T cell activation with OCH, a sphingosine-truncated analog of α -galactosylceramide. *Arthritis & Rheum* 2004 ; 50 : 305.
- 11) Wilson SB, Delovitch TL. Janus-like role of regulatory iNKT cells in autoimmune disease and tumour immunity. *Nat Rev Immunol* 2003 ; 3 : 211.
- 12) Sumida T, Sakamoto A, Murata H, et al. Selective reduction of T Cells bearing invariant V α 24J α Q antigen receptor in patients with systemic sclerosis. *J Exp Med* 1995 ; 182 : 1163.
- 13) Kojo S, Adachi Y, Keino H, et al. Dysfunction of T cell receptor α V24 α J18⁺, β V11⁺ double-negative regulatory natural killer T cells in autoimmune diseases. *Arthritis Rheum* 2001 ; 44 : 1127.
- 14) Araki M, Kondo T, Gumperz JE, et al. Th2 bias of CD4⁺T cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol* 2003 ; 15 : 279.
- 15) Falcone M, Facciotti F, Ghidoli N, et al. Up-regulation of CD1d expression restores the immunoregulatory function of NK T cells and prevents autoim-

mune diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol* 2004 ; 172 : 5908.

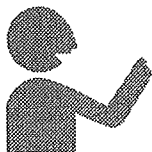
16) Mizuno M, Masumura M, Tomi C, et al. Synthetic Glycolipid OCH Prevents Insulinitis and Diabetes in NOD Mice. *J Autoimmun.* In press 2004.

17) Mi QS, Ly D, Zucker P, et al. Interleukin-4 but not interleukin-10 protects against spontaneous and recurrent type 1 diabetes by activated CD1d-restricted invariant natural killer T-cells. *Diabetes* 2004 ; 53 : 13030.

18) Chiba A, Kaieda S, Oki S, et al. The participation of Va14 NKT cells in the pathogenesis of murine models of arthritis. *Arthritis & Rheum.* In press 2004.

19) Zhou D, Mattner J, Cantu C, et al. Lysosomal glycosphingolipid recognition by NKT cells. *Science* 2004 ; 306 : 1786.

* * *



話 題

ニューロペプチド Y と免疫制御*

山 村 隆**

Key Words : neuropeptide Y(NPY), EAE, immunoregulation, Th1/Th2

はじめに

免疫疾患は、ストレスや精神状態の影響を受ける。たとえば、精神的ストレスでアレルギー疾患が増悪することは日常的に経験することであるが、その生物学的な背景について明らかにされていることは少ない。その理由として、このような免疫学と神経科学の接点に存在する問題は、それを解決する手がかりが少なく、研究者の数も少ないことがあげられるかもしれない。しかし、免疫系と神経系が共通の分子を用いていることや、両システムのクロストーク(neuro-immune crosstalk)の実態が徐々に明らかになり、内分泌系も含めて、生体調節機構(神経・免疫・内分泌ネットワーク: neuro-immune-endocrine network)を包括的に扱うような研究が重要になってきた。神経系による免疫制御については、交感神経がアドレナリン受容体を介して免疫反応を制御する事実が以前から知られている^{1)~3)}。しかし、交感神経末端からカテコラミンとともに放出されるco-transmitterであるニューロペプチド Y(neuropeptide Y; NPY)が、カテコラミンと協調して免疫反応を制御することが明らかになり、神経免疫制御にかかわる分子のひとつとして新しい研究対象になっている⁴⁾。本稿では、NPYの免疫制御作用に関する最近の知見を紹介する。

ニューロペプチド Y

ニューロペプチド Y(NPY)は36個のアミノ酸からなるポリペプチドで、Tetemotoらによって1982年に豚の脳から発見された⁵⁾。NPY受容体は7回膜貫通型のG蛋白質共役型レセプターで、マウスでは機能的なレセプターとしてY1, Y2, Y4, Y5, Y6の5種類のサブタイプ、ヒトではY6を除いた4種類のサブタイプが存在する。共通の受容体を利用するファミリー分子には、膵臓で産生されるpancreatic polypeptide(PP)と小腸で分泌されるpeptide YY(PYY)がある。NPYは中枢神経系内でもっとも豊富に存在する神経ペプチドであり、その中枢神経系における作用はきわめて多彩である。とくに食欲亢進作用は顕著であるが、情動反応の制御、血管収縮、神経活動性の制御などにも関係する。近年では、NPYやNPY受容体を欠損するノックアウトマウスが多数作製され、受容体サブタイプそれぞれの機能に関する解析が進んでいる⁶⁾。

NPYの分布は中枢神経に限局せず、末梢の節後交感神経(postganglionic sympathetic fiber)末端のシナプス小胞にも豊富に存在する。その大部分はノルエピネフリン(norepinephrine; NE)と同じ小胞に含まれるが、NPYのみを含む小胞もある(図1)。交感神経が活性化するとNPYはNEとともに分泌され⁷⁾、NEのco-transmitterとして交感神経活動の変化を微妙に調整する。

* Neuropeptide Y as an immunomodulatory molecule.

** Takashi YAMAMURA, M.D., Ph.D.: 国立精神・神経センター 神経研究所 免疫研究部(〒187-8502 小平市小川東町4-1-1); Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP, Kodaira 187-8502, JAPAN

交感神経による免疫系の調節

交感神経末端は一次免疫臓器(胸腺), および二次リンパ臓器(リンパ節, 脾臓)に広く分布している. 過去20年間の研究により, 交感神経が免疫系を制御する証拠が集積してきた. とくに6-hydroxydopamine (6-OHDA)の体内投与によって, ラットやマウスの交感神経終末NEを枯渇させる方法(化学的交感神経切除, chemical sympathectomy; CSE)は, 交感神経が免疫系に及ぼす役割の解明に貢献してきた¹¹³⁾. たとえば, 多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE)は, CSEによって増悪する¹¹⁸⁾. また関節リウマチのモデルであるコラーゲン誘導関節炎も, 同様にCSEで悪化する⁹⁾. EAEやコラーゲン誘導関節炎は, Th1細胞の介在する動物モデルであり, CSEの実験結果は交感神経系がTh1細胞の抑制に関与することを示唆している. しかし, CSEによって逆に関節炎が軽症化したという報告もあり, 交感神経が常にTh1応答を抑制するとは限らない. またわれわれは, IL-4ノックアウトマウスに誘導したEAEがCSEによって軽症化することを報告している⁹⁾. 実験結果が乖離する理由は不明であるが, T細胞免疫応答の誘導における動物の系統差や, 感作条件の違いなどで説明できるかもしれない.

カテコラミンと免疫調節

リンパ球やマクロファージの機能は, カテコラミンによるアドレナリン β_2 受容体(β_2R)の刺激により調節を受ける. たとえば, β_2R を特異的に活性化するsalbutamolは, モノサイトやマクロファージのIL-12産生を抑制して, 免疫応答をTh1からTh2に偏倚させる^{110,111)}. Th1細胞を介する自己免疫疾患MSに対するsalbutamol短期投与試験では, モノサイトのIL-12産生抑制が確認されている¹¹⁾. 関節炎モデルにおいても, salbutamolがマクロファージや樹状細胞のIL-12産生抑制を介して治療効果を示すが¹¹²⁾, 長期投与では, β_2R 受容体発現レベルの低下のために治療効果は期待できない. なお, salbutamolには, 経口寛容(oral

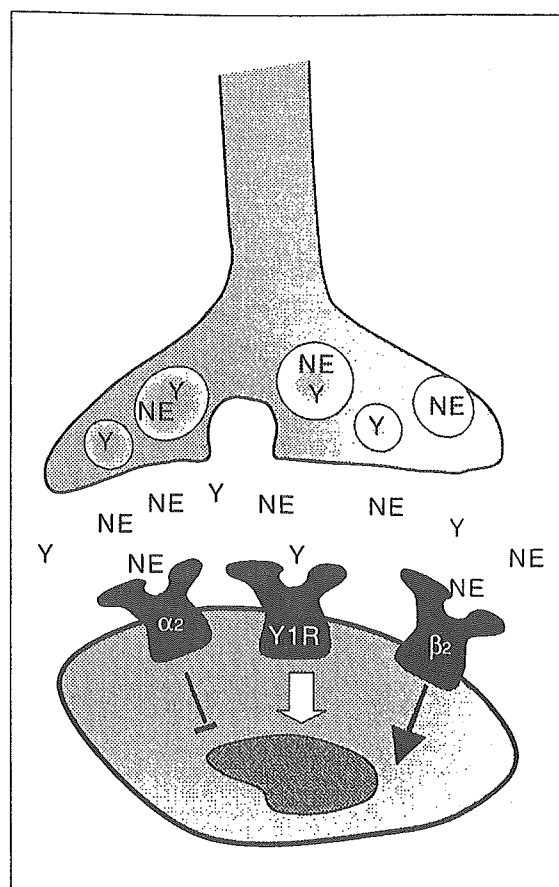


図1 交感神経—免疫制御におけるノルエピネフリンとNPYの役割

交感神経終末にはノルエピネフリン(NE)とNPY(Y)を含有する小胞, あるいはNPYのみを含む小胞があり, 神経活動に伴って放出され, 近傍の免疫細胞(ここではマクロファージ)に作用する. 低濃度のNEは α_2 受容体を介して抑制性シグナルを入れ, マクロファージのIL-6産生を抑制する¹¹⁰⁾. しかし, 高濃度のNEは β_2 受容体を介してIL-6産生に促進的なシグナルを入れる. NPYによるY1受容体を介したシグナルは, α_2 受容体の抑制シグナル, β_2 受容体の促進シグナル, それぞれを増強させるco-transmitterとして働く.

(文献^{110,111)}より引用改変)

tolerance)の誘導を促進する作用も報告されている¹¹³⁾. β_2R は活性化Th1細胞には発現し, 活性化Th2細胞には発現しないという論文もあり¹¹⁴⁾, カテコラミンは状況によってはTh1細胞のみを抑制し, Th1/Th2バランスをTh2に偏倚させることが推測される.

NPYによる自然免疫制御

NPYは自然免疫(innate immunity)と獲得免疫(acquired immunity)の両方に影響を与えることが報告されている. NPYによる自然免疫系の調

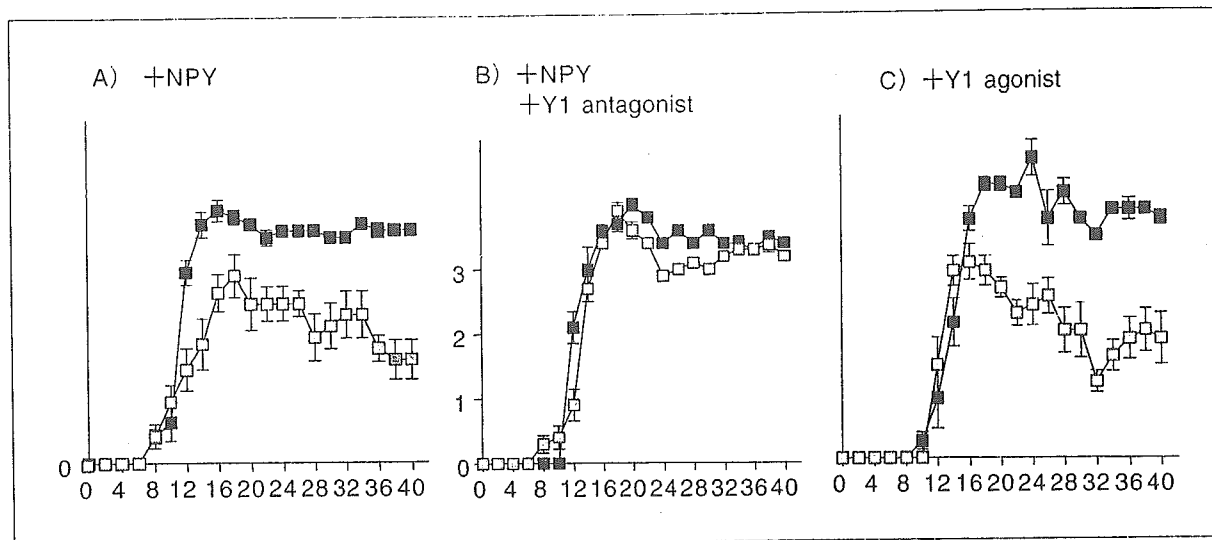


図2 NPYによるEAEの抑制はY1受容体を介する

B6マウスにMOG₃₅₋₅₅ペプチドでEAEを誘導し、感作当日から隔日にNPYまたは関連薬剤を腹腔内に投与した。
 A: NPY単独の投与によりEAEの臨床症状は抑制された(黒: 対照群, グレイ: 治療群)。
 B: NPYと同時にY1受容体のアンタゴニストを投与すると、EAEの抑制効果は消失した(黒: 対照群, グレイ: 治療群)。
 C: Y1受容体アゴニストの単独投与によりEAEの臨床症状は有意に抑制された(黒: 対照群, グレイ: 治療群)。
 (文献¹⁹⁾より引用)

節については、多核白血球、マクロファージ、NK細胞などを材料とした研究結果が発表され、NPYによる白血球の呼吸バースト(respiratory burst)の制御やマクロファージのIL-6産生能の調節などの現象が報告されている¹⁵⁾。Straubらは脾臓スライスを電気刺激する特殊な実験系において、 β_2R 刺激はマクロファージのIL-6産生を促進するが α_2R 刺激は逆にIL-6を抑制すること、NPYのY1受容体刺激を加えると β_2R 、 α_2R それぞれを介した効果(IL-6産生の亢進または抑制)が、さらに増強されることを報告している¹⁶⁾(図1)。NK細胞については、NPYの脳室内投与によってNK活性を抑制するという報告がある。いずれの実験系においても、NPYはカテコラミンの効果を調節する因子(co-transmitter)として作用していることが推測されている。

NPYによるTh1/Th2バランスの調節

1998年にKawamuraらは、NPYの添加によりマウスTh1細胞クローンのインターフェロン γ (IFN- γ)産生が抑制され、Th2クローンのIL-4産生が促進されるという現象を報告した¹⁷⁾。また同年Leviteは、NPYがTh1細胞をTh0細胞(Th1とTh2サイトカインの両者を産生)に変化させることを報告し

た¹⁸⁾。これらはNPYがサイトカインのバランスを修飾する可能性を示唆したが、試験管内のアーチファクトである可能性は否定できなかった。われわれはそこで、Th1細胞の介在するEAEに対してNPYおよび関連合成化合物の投与実験を行い、NPY受容体刺激が自己免疫病EAEにどのような影響を与えるか検討した¹⁹⁾。実験の結果、NPYの連続投与によって、EAEは有意に抑制されることがわかった(図2)。さらに、Y1受容体の選択的アゴニストによっても、EAEは抑制されるが、Y5受容体の選択的アゴニストでは抑制されないことが明らかになった。また、NPYとY1受容体アンタゴニストを併用すると、NPYのEAE抑制効果が解除されることも確認できた。また、投与時期については、EAEの誘導相(感作後10日間)に投与すれば、感作後34日間の連続投与と同等の効果が得られることがわかった。一連の結果は、Y1受容体アゴニストにより、EAEの誘導相が効果的に抑制できることを意味する。さらに、Y1受容体アゴニストの投与によってEAEの抑制されたマウスでは、EAEの誘導に用いたMOG₃₅₋₅₅ペプチド特異的T細胞のIFN- γ 産生能が抑制されていた。またMOG₃₅₋₅₅ペプチドに対する抗体価を測定したところ、NPY治療群ではIgG1

の上昇とIgG2aの低下, およびそれに伴うIgG1/IgG2a比の上昇を認めた. IgG1はTh2細胞反応を反映し, IgG2aはTh1を反映する. したがって, 以上の結果は, NPY投与によってTh1/Th2バランスがTh2に偏倚し, それがEAEの抑制のメカニズムであることを意味している.

おわりに

ニューロペプチドY(NPY)によって神経機能や内分泌・代謝のバランスが調整されることは広く知られていたが, NPYが免疫制御にまでかわる, 生体統御の鍵を握る分子であることが明らかになってきた. 今後, アレルギー疾患や自己免疫疾患の病態を理解し, その治療を行う上で, NPYの役割を考慮した対応が求められるようになるかもしれない. しかし, NPYの作用効果は複雑であり, NPYの量, NPY受容体の発現量や感受性, あるいは協調的に働くノルエピネフリン(NE)の量や受容体の状態などによって, 大きく異なる効果を発揮することが推測される. また, 局所における作用と遠隔作用の乖離することも推測され, その生理機能を明らかにするには複合的な解析が求められる.

免疫疾患との関連では, 多発性硬化症(MS)の脳脊髄液や関節リウマチの滑膜液におけるNPYの減少が報告されているが, この変化が病態の増悪に関与するものか, あるいは病態の軽減に貢献するものかについても明確ではない. もし生体統御的なneuroimmune crosstalkの機能不全を意味するものであれば, NPYを補正すれば治療効果が得られるかもしれない. NPYによる免疫制御は未開の領域であるが, それなればこそ, 慎重な検討により新しい発見に到達する可能性も高い. 本稿が神経免疫制御に関心をもつ多くの読者の参考になれば幸いである.

文 献

- 1) Chelmicka-Schorr E, Checinski M, Arnason BG. Sympathetic nervous system derived trophic factor augments growth of human neuroblastoma *in vitro*. *J Neuroimmunol* 1988 ; 17 : 347.
- 2) Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, et al. Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. *Nat Med* 1998 ; 4 : 808.
- 3) Miura T, Kudo T, Matsuki A, et al. Effect of 6-hydroxydopamine on host resistance against *Listeria monocytogenes* infection. *Infect Immun* 2001 ; 69 : 7234.
- 4) Bedoui S, Miyake S, Straub RH, et al. More sympathy for autoimmunity with neuropeptide Y? *Trends Immunol* 2004 ; 25 : 508.
- 5) Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V. Neuropeptide Y - a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature* 1982 ; 296 : 659.
- 6) Lin S, Boey D, Herzog H. NPY and Y receptors : lessons from transgenic and knockout models. *Neuropeptides* 2004 ; 38 : 189.
- 7) Fried G, Terenius L, Hokfelt T, et al. Evidence for differential localization of noradrenaline and neuropeptide Y in neuronal storage vesicles isolated from vas deferens. *J Neurosci* 1985 ; 5 : 450.
- 8) Pál E, Yamamura T, Tabira T. Autonomic regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-4 knockout mice. *J Neuroimmunol* 1999 ; 100 : 149.
- 9) Lorton D, Bellinger D, Duclos M, et al. Application of 6-hydroxydopamine into the fatpads surrounding the draining lymph nodes exacerbates adjuvant-induced arthritis. *J Neuroimmunol* 1996 ; 64 : 103.
- 10) Panina-Bordignon P, Mazzeo D, Lucia PD, et al. Beta2-agonists prevent Th1 development by selective inhibition of interleukin 12. *J Clin Invest* 1997 ; 100 : 1513.
- 11) Makhoulouf K, Weiner HL, Khoury SJ. Potential of beta2-adrenoceptor agonists as add-on therapy for multiple sclerosis : focus on salbutamol (albuterol). *CNS Drugs* 2002 ; 16 : 1.
- 12) Malfait AM, Malik AS, Marinova-Mutafchieva L, et al. The β_2 -adrenergic agonist salbutamol is a potent suppressor of established collagen-induced arthritis : mechanisms of action. *J Immunol* 1999 ; 162 : 6278.
- 13) Cobelens PM, Kavelaars A, Vroon A, et al. The β_2 -adrenergic agonist salbutamol potentiates oral in-

- duction of tolerance, suppressing adjuvant arthritis and antigen-specific immunity. *J Immunol* 2002 ; 169 : 5028.
- 14) Ramer-Quinn DS, Baker RA, Sanders VM. Activated T helper 1 and T helper 2 cells differentially express the beta-2-adrenergic receptor : a mechanism for selective modulation of T helper 1 cell cytokine production. *J Immunol* 1997 ; 159 : 4857.
- 15) Bedoui S, Kawamura N, Straub RH, et al. Relevance of neuropeptide Y for the neuroimmune crosstalk. *J Neuroimmunol* 2003 ; 134 : 1.
- 16) Straub RH, Schaller T, Miller LE, et al. Neuropeptide Y cotransmission with norepinephrine in the sympathetic nerve-macrophage interplay. *J Neurochem* 2000 ; 75 : 2464.
- 17) Kawamura N, Tamura H, Obana S, et al. Differential effects of neuropeptides on cytokine production by mouse helper T cell subsets. *Neuroimmunomodulation* 1998 ; 5 : 9.
- 18) Levite M. Neuropeptides, by direct interaction with T cells, induce cytokine secretion and break the commitment to a distinct T helper phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 12544.
- 19) Bedoui S, Miyake S, Lin Y, et al. Neuropeptide Y (NPY) suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis : NPY1 receptor-specific inhibition of autoreactive Th1 responses *in vivo*. *J Immunol* 2003 ; 171 : 3451.

* * *

多発性硬化症とNK細胞

山村 隆 (国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部部長)

● はじめに

多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) は、一般に再発と寛解を繰り返す疾患で、中枢神経抗原に反応するT細胞の介在する自己免疫疾患と考えられている。MSの急性期にはステロイドパルス療法を行い、慢性期にはインターフェロン(interferon : IFN)- β などのdisease modifying agentを用いることが、より良好な予後につながることはさまざまな研究によって証明されている¹⁾。しかし、長期的な予後を無視した場合には、特に治療を施さなくても改善し、寛解が一定の期間は維持できる症例が多いことも事実である。全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus : SLE)などの膠原病では、寛解は継続的なステロイドや免疫抑制剤の投与によってのみ維持されることが一般的であるので、MSは自己免疫疾患のなかでは例外的な疾患かもしれない。もしMSに完全寛解を誘導できれば、それはMSの治癒を意味するので、寛解がどのようにして維持され、どのように破綻するかを明らかにする研究は重要である。

われわれの研究室では近年 natural killer (NK) 細胞がMSの病態で果たす役割について研究を進めているが、NK細胞がMSの寛解の維持に積極的に関与することがかなり明らかになった^{2,3)}。ここでは、その要点を解説する。

● NK細胞と自己免疫疾患

NK細胞は細胞内顆粒を含む大型リンパ球で、抗腫瘍活性を持つ細胞として広く知られている。以前は、T細胞やB細胞に比べて地味な研究対象と捉えられていたが、“NK細胞の生物学”は、現在では免疫学でもっとも重要な研究領域の1つになっている。NK細胞はIFN- γ 、インターロイキン(interleukin : IL)-5、IL-13、transforming growth factor (TGF)- β などのサイトカインを迅速に産生する能力があり、抗腫瘍活性に限らず、感染免疫応答の制御、自己免疫応答の制御などにおいても重要な働きをする。NK細胞のないマウスでは、MSの動物モデルである実験的自己免疫性脳炎(experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE)や自己免疫性糖尿病が重症化することから、NK細胞が自己免疫疾患の制御細胞として働くことは明らかである⁴⁾。しかし、NK細胞のないマウスで軽快する病態もあるので、サイトカイン環境や自然免疫の活性化状態などにより、NK細胞に与えられる役割は変

化することが推測される。

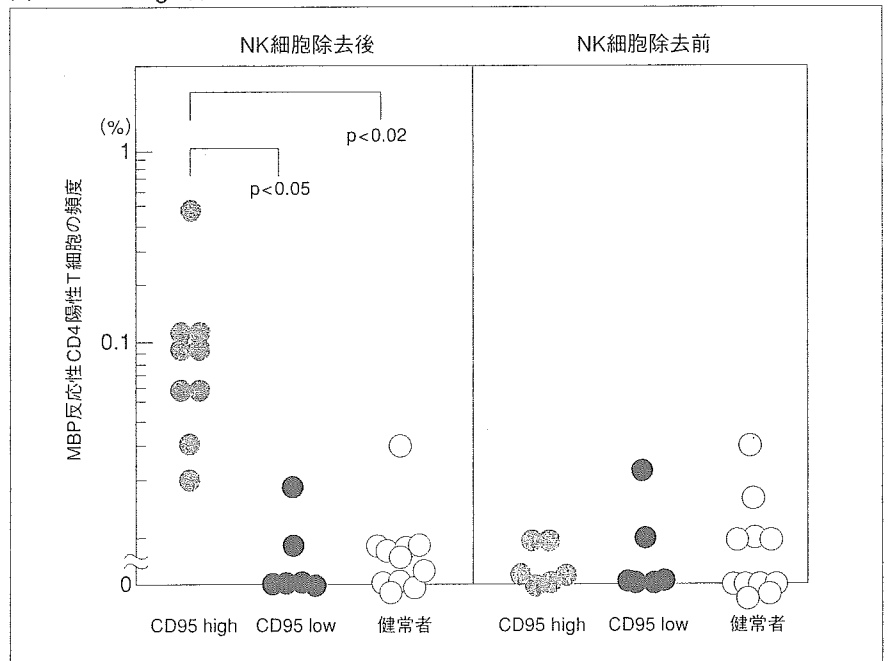
● MSにおけるNK細胞の変化

MSの寛解期に見られる末梢血NK細胞の特徴としては、IL-5産生能の亢進と、細胞表面のCD95分子の発現亢進が重要である²⁾。IL-5を大量に産生するNK細胞はNK2細胞と呼ばれ、MSの脳内炎症を誘導する自己反応性のTh1細胞を抑制する活性がある。したがって、MS寛解期でNK2細胞が増加していることは、MSの寛解維持に有利な変化である。NK細胞のCD95発現の意味は明らかではないが、CD95はNK細胞の機能的偏倚を反映する重要なマーカーと考えられる。実際、寛解期のMS患者は、CD95陽性NK細胞の頻度が明らかに多い患者(CD95 high)と、健常者と同レベルにとどまっている患者(CD95 low)に分かれる。

● 多発性硬化症におけるNK細胞の役割

自己免疫疾患MSにおいて、代表的な標的自己抗原はミエリン塩基性蛋白(myelin basic protein : MBP)であり、患者末梢血ではMBPに反応するT細胞が増加している。しかし、末梢血リン

図1 CD95 high群におけるMBP反応性T細胞の検出³⁾



末梢血リンパ球をMBPで8時間刺激すると、MBP反応性のメモリーTh1細胞(病気の誘導に関わる細胞)はIFN- γ を産生する。IFN- γ 分泌を指標にすれば、MBP反応性T細胞の頻度をフローサイトメーターで算定できると想定したが、健常者またはMS患者の末梢血リンパ球を使った場合には、IFN- γ 分泌細胞はほとんど検出できなかった。しかし、CD95 high患者のNK細胞を除いたリンパ球を使った時には、高い頻度のMBP反応性T細胞が検出できた(本文参照)。CD95 high患者では、MBP反応性T細胞が増加しているが、NK細胞がその活性化を抑制しているので、このような結果が得られたものと考えられる。

パルスをMBPで8時間刺激してIFN- γ 産生細胞を検出するアッセイ(主にメモリーT細胞を検出する方法)では、寛解期MS患者末梢血中のMBP反応性T細胞の増加を証明できない。しかし、あらかじめNK細胞を除いてからMBPで刺激すると、相当数の患者でMBP反応性T細胞が検出できるようになる。興味深いことに、NK細胞を除くことによって、MBP反応性T細胞が検出できる患者は、ほぼ前例CD95 highに属することがわかった(図1)³⁾。一方、健常者やCD95 lowの患者では、NK細胞を除いても、MBP反応性T細胞はほとんど検出できなかった。

● 考察

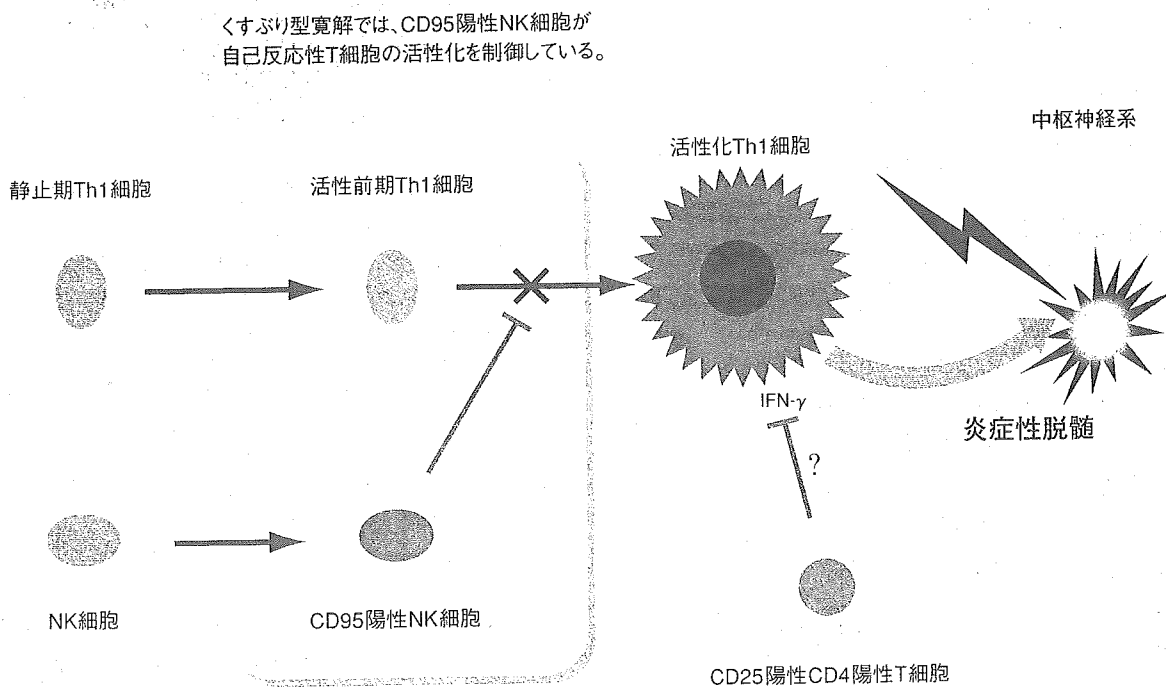
MS寛解期の患者の多くで、NK細胞の性状(サイトカイン産生、CD95発現)に明らかな変化が見られる。CD95陽性NK細胞の増加している患者(CD95 high)では、MBPに即座に反応してIFN- γ を産生する自己反応性Th1細胞が増加しているが、Th1細胞が外来抗原などの刺激で活性化しそうになると、CD95陽性NK細胞がそれに拮抗するので、寛解が維持されるものと考えられる(図2)。しかし、このような寛解は、NK細胞の変調につながる

る“感染”や“ストレス”で容易に破綻する。このような不安定な寛解状態を、“くすぶり型寛解(smoldering remission)”と呼ぶことも可能である³⁾。MBP反応性T細胞を脳内に侵入して破壊活動を起こすテロリストに例えると、CD95 highの患者では潜伏しているテロリストの数は多いが、武装警官(CD95陽性NK細胞)も多いので、かろうじて平和な状態(寛解)が維持されていると考えられる。一方、CD95 lowではテロリストがいないので、警官がいなくても安全が維持されている状態ととらえることが可能かもしれない。このように、NK細胞はMS病態を映す鏡であり、病勢のモニターや予後の予測に重要な情報を与えてくれる。一連の研究結果²⁻⁴⁾は、日本発のブレイクスルーであり、国際的にも注目されているところである⁵⁾。

〈文献〉

- 1) Saida T et al : *Neurology* 64 : 621-630, 2005
- 2) Takahashi K et al : *J Clin Invest* 107 : R23-R29, 2004
- 3) Takahashi K et al : *Brain* 127 : 1917-1927, 2004
- 4) Zhang B-N et al : *J Exp Med* 186 : 1677-187, 1997
- 5) Antel J and Owens T : *Brain* 127 : 1915-1916, 2004

図2 くすぶり型寛解におけるNK細胞の役割



寛解期のMS患者の体内には、いつでも活動できるMBP反応性Th1細胞が数多く存在する。しかし、再発につながるTh1細胞の活性化が起こりそうになると、CD95陽性NK細胞が迅速に対応してそれを制御する。NK細胞が変調を来した場合には、Th1細胞に対する制御が不十分になり、再発が起こる可能性が高まる。



解説

ニューロペプチド Y と免疫制御*

山村 隆**

Key Words : neuropeptide Y, EAE, immunoregulation, Th1/Th2

はじめに

免疫系と神経系が共通の分子を用いていることや、両システムのクロストークの実態が徐々に明らかになり、生体調節機構(神経・免疫・内分泌ネットワーク)を包括的に扱うような研究が重要になってきた。神経系による免疫制御については、交感神経がアドレナリン受容体を介して免疫反応を制御する事実が以前から知られている¹⁾。しかし、交感神経末端からカテコラミンとともに放出されるco-transmitterであるニューロペプチド Y(neuropeptide Y; NPY)が、カテコラミンと協調して免疫反応を制御することが明らかになり、神経免疫制御の新しい研究対象になっている²⁾。本稿では、NPYの免疫制御作用に関する最近の知見を紹介する。

NPY

NPYは36個のアミノ酸よりなるポリペプチドである。その受容体は7回膜貫通型のG蛋白質共役型レセプターで、マウスでは機能的なレセプターとしてY1, Y2, Y4, Y5, Y6の5種類のサブタイプ、ヒトではY6を除いた4種類のサブタイプが存在する。NPYは中枢神経系内でもっとも豊富に存在する神経ペプチドで、食欲亢進、情動反応の制御、血管収縮などに関係する。しかし、NPYは末梢の節後交感神経末端のシナプス小胞にも豊富に存在する。その大部分はノルエピネフリン(norepinephrine; NE)と同じ小胞に含まれる

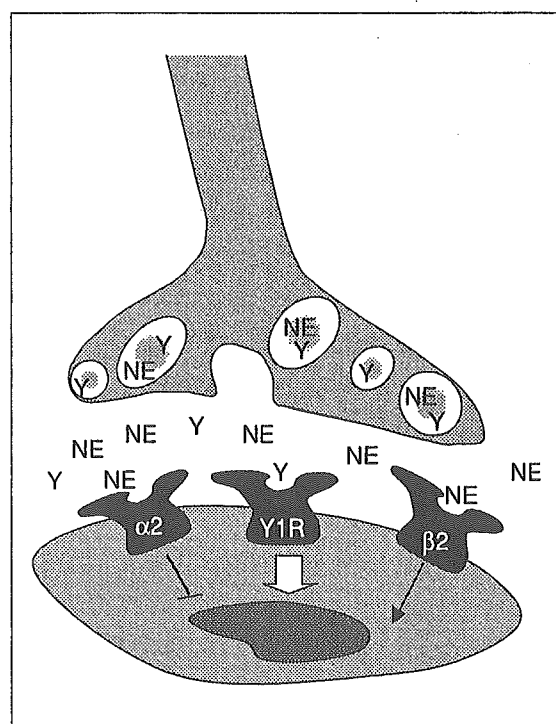


図1 交感神経-免疫制御におけるノルエピネフリン(NE)とNPYの役割

交感神経終末にはNEとNPY(図ではY)を含有する小胞、あるいはNPYのみを含む小胞があり、神経活動に伴って放出され、近傍の免疫細胞(ここではマクロファージ)に作用する。低濃度のNEは α_2 受容体を介して抑制性シグナルを入れ、マクロファージのIL-6産生を抑制する³⁾。しかし、高濃度のNEは β_2 受容体を介してIL-6産生に促進的なシグナルを入れる。NPYによるY1受容体を介したシグナルは、 α_2 受容体の抑制シグナル、 β_2 受容体の促進シグナル、それぞれを増強させるco-transmitterとして働く。(文献⁴⁾より引用改変)

が、NPYのみを含む小胞もある(図1)。交感神経が活性化するとNPYはNEとともに分泌され、

* Neuropeptide Y and immunoregulation.

** Takashi YAMAMURA, M.D., Ph.D.: 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部(☎187-8502 小平市小川東町4-1-1); Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP, Kodaira 187-8502, JAPAN

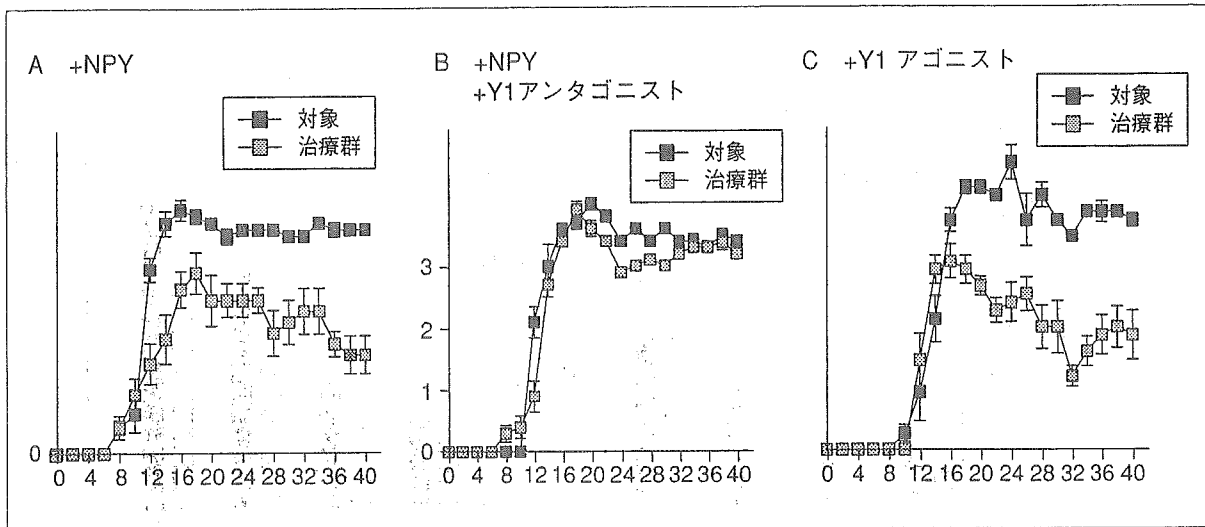


図2 NPYによるEAEの抑制はY1受容体を介する

B6マウスにMOG₃₅₋₅₅ペプチドでEAEを誘導し、感作当日より隔日にNPYまたは関連薬剤を腹腔内に投与した。

A: NPY単独の投与によりEAEの臨床症状は抑制された。

B: NPYと同時にY1受容体のアンタゴニストを投与すると、EAEの抑制効果は消失した。

C: Y1受容体アゴニストの単独投与によりEAEの臨床症状は有意に抑制された。(文献⁹⁾より引用改変)

NEのco-transmitterとして交感神経活動の変化を微調整する。

交感神経による免疫系の調節

交感神経末端は胸腺、リンパ節、脾臓に広く分布している。6-hydroxydopamine(6-OHDA)の体内投与によって交感神経終末NEを枯渇させる方法(chemical sympathectomy; CSE)は、交感神経が免疫系に及ぼす役割の解明に貢献してきた¹⁾。たとえば、多発性硬化症(MS)の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)や関節リウマチのモデルであるコラーゲン誘導関節炎はCSEで悪化する¹⁾³⁾。これらの病態にはTh1細胞が介在するので、CSEの実験結果は交感神経系がTh1細胞の抑制に関与することを示唆している。

カテコラミンと免疫調節

リンパ球やマクロファージの機能は、カテコラミンによるアドレナリンβ2受容体(β2R)の刺激により調節を受ける。β2Rの特異的アゴニストsalbutamolを関節炎モデルに投与すると、マクロファージや樹状細胞のIL-12産生が抑制され、治療効果が得られる⁴⁾。しかし、長期投与するとβ2R発現レベルが低下し効果はなくなる。MSに対するsalbutamol短期投与試験が行われているが、や

はりモノサイトのIL-12産生抑制が確認されている⁵⁾。カテコラミンは状況によってはTh1細胞のみを抑制し、Th1/Th2バランスをTh2に偏倚させることが推測される。

NPYによる自然免疫制御

NPYによる自然免疫系(多核白血球、マクロファージなど)への影響については、白血球の呼吸バーストの制御やマクロファージのIL-6産生能の調節などの現象が報告されている⁶⁾。脾臓スライスの電気刺激実験では、β2R刺激はマクロファージのIL-6産生を促進するが、α2R刺激は逆にIL-6を抑制する。そこにY1受容体刺激を加えると、β2R、α2Rそれぞれを介した効果(IL-6産生の亢進または抑制)が増強される(図1)⁷⁾。これは、NPYがカテコラミンの効果を調節するco-transmitterとして作用していることを意味する。

NPYによるTh1/Th2バランスの調節

マウスTh1細胞クローンは、NPYで処理するとサイトカイン産生パターンをTh2に偏倚させる⁸⁾。われわれは、Th1細胞の介在するEAEに対してNPYおよび関連ペプチドの投与実験を行い、NPY受容体刺激がEAEに与える影響を検討した⁹⁾。実験の結果、NPYあるいはY1アゴニストの連続投与によって、EAEは有意に抑制されることがわかつ

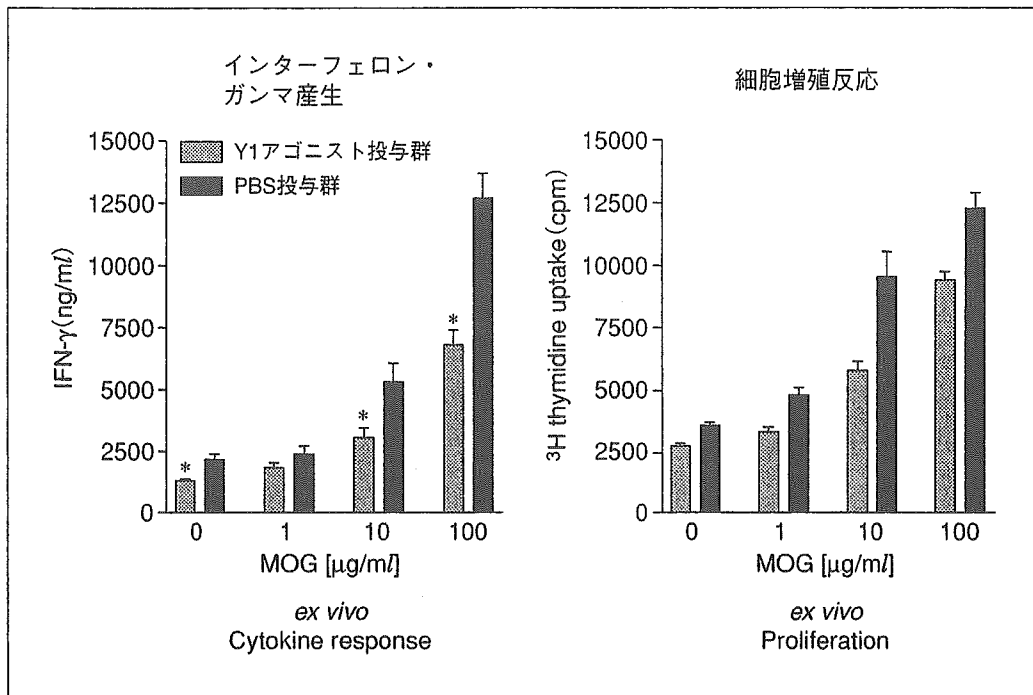


図3 NPY投与による感作T細胞のインターフェロン・ガンマ産生能の低下
MOG₃₅₋₅₅ペプチドで感作したB6マウスに、Y1アゴニストまたはphosphate buffered saline (PBS)を隔日に投与し、約10日後に所属リンパ節細胞を摘出した。リンパ球をMOG₃₅₋₅₅ペプチド(1~100 µg/ml)で刺激し、細胞増殖反応(右パネル)と培養上清中のサイトカインをELISAで測定した。*はY1アゴニスト投与群で有意に低下していることを示す($p < 0.0001$)。(文献⁹⁾より引用改変)

た(図2)。しかし、Y5アゴニストの投与では抑制されなかった。また、NPYとY1アンタゴニストを併用すると、NPYのEAE抑制効果が解除された。さらに、Y1アゴニストの投与によってEAEの抑制されたマウスでは、EAEの誘導に用いたMOG₃₅₋₅₅ペプチド特異的T細胞の増殖反応は保たれていたがIFN-γ産生能が有意に抑制されていた(図3)。また、MOG₃₅₋₅₅特異的IgG1の上昇とIgG2aの低下、およびそれに伴うIgG1/IgG2a比の上昇も認めた。IgG1はTh2細胞反応を反映し、IgG2aはTh1を反映するので、NPY投与によりTh1/Th2バランスがTh2に偏倚し、それがEAE抑制につながったものと考えられる。

おわりに

NPYが免疫制御にかかわる分子であることが明らかになった。しかし、NPYの作用効果は複雑であり、受容体の発現量や感受性、協調的に働くNEの量や受容体の状態などによって、異なる効果を発揮する。局所における作用と遠隔作用の乖離することも推測され、その生理機能を

明らかにするには複合的な解析が求められる。

文 献

- 1) Chelmicka-Schorr E, Checinski M, Arnason BG. Sympathetic nervous system derived trophic factor augments growth of human neuroblastoma in vitro. *J Neuroimmunol* 1988 ; 17 : 347.
- 2) Bedoui S, Miyake S, Straub RH, et al. More sympathy for autoimmunity with neuropeptide Y? *Trends Immunol* 2004 ; 25 : 508.
- 3) Lorton D, Bellinger D, Duclos M, et al. Application of 6-hydroxydopamine into the footpads surrounding the draining lymph nodes exacerbates adjuvant-induced arthritis. *J Neuroimmunol* 1996 ; 64 : 103.
- 4) Malfait AM, Malik AS, Marinova-Mutafchieva L, et al. The β2-adrenergic agonist salbutamol is a potent suppressor of established collagen-induced arthritis : mechanisms of action. *J Immunol* 1999 ; 162 : 6278.
- 5) Makhlof K, Weiner HL, Khoury SJ. Potential of beta2-adrenoceptor agonists as add-on therapy for

- multiple sclerosis : focus on salbutamol (albuterol).
CNS Drugs 2002 ; 16 : 1.
- 6) Bedoui S, Kawamura N, Straub RH, et al. Relevance of neuropeptide Y for the neuroimmune crosstalk. J Neuroimmunol 2003 ; 134 : 1.
- 7) Straub RH, Schaller T, Miller LE, et al. Neuropeptide Y cotransmission with norepinephrine in the sympathetic nerve-macrophage interplay. J Neurochem 2000 ; 75 : 2464.
- 8) Kawamura N, Tamura H, Obana S, et al. Differential effects of neuropeptides on cytokine production by mouse helper T cell subsets. Neuroimmunomodulation 1998 ; 5 : 9.
- 9) Bedoui S, Miyake S, Lin Y, et al. Neuropeptide Y (NPY) suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis : NPY1 receptor-specific inhibition of autoreactive Th1 responses in vivo. J Immunol 2003 ; 171 : 3451.

* * *

α -ガラクトシルセラミドとその誘導体

三宅幸子*

NKT細胞は、NKマーカーを発現するT細胞の総称だが、その多くはT細胞レセプター α 鎖に可変性のないinvariant鎖(マウス:V α 14J α 281, ヒト:V α 24J α Q)を発現し、多型性のないCD1d分子により提示された糖脂質をリガンドとするユニークなリンパ球である。抗原刺激によりIL-4, IFN- γ を短時間で大量に産生することから、多くの免疫調節機能をもつ。とくに自己免疫疾患においては、 α -ガラクトシルセラミドやその誘導体であるOCHなどの糖脂質抗原を用いて、NODマウスにおける糖尿病、実験的自己免疫性脳脊髄炎、コラーゲン関節炎、炎症性腸炎を抑制することが報告され、自己免疫疾患の新しい治療標的として期待されている。

はじめに

α -ガラクトシルセラミド(α -galactosylceramide: α -GC)は、海綿から抗癌作用をもつ物質として発見された。その後、ナチュラルキラーT(natural killer T: NKT)細胞を特異的に活性化すること、NKT細胞が自己免疫疾患の調節に関与すること、 α -GCやその変異体を投与することによってさまざまな自己免疫疾患を抑制できることが報告され、自己免疫疾患の治療薬となる可能性が期待されている。本稿では、自己免疫疾患動物モデルにおけるNKT細胞の関与・糖脂質による治療の試

みについて紹介し、ヒトの自己免疫疾患におけるNKT細胞の関与、合成糖脂質に対するヒトNKT細胞の反応性についても概説する。

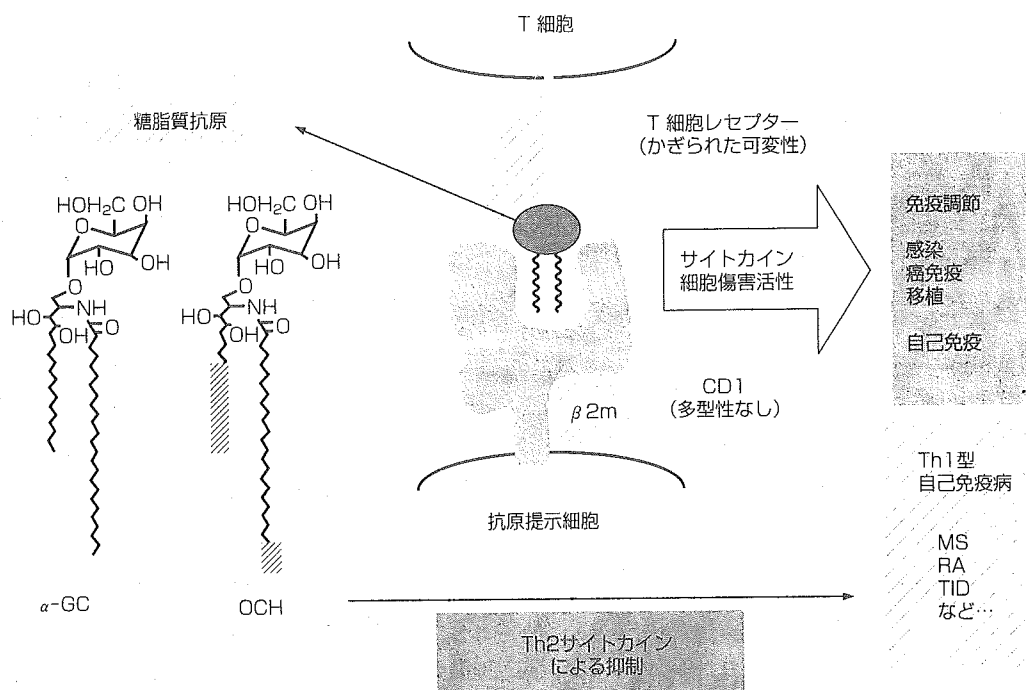
1. NKT細胞とは

NKT細胞は、NKマーカーを有するT細胞の総称であり、いくつかのサブポピュレーションがあることが知られている。そのなかで、T細胞レセプター(T cell receptor: TCR) α 鎖に可変性のないinvariant鎖(マウスではV α 14J α 18, ヒトではV α 24J α 18)を発現する細胞が最も解析が進んでおり、自己免疫との関連も研究されているので、本稿ではNKT細胞をiV α 14(ヒトではV α 24)NKT細胞と定義して概説する^{1)~3)}。V α 14NKT細胞は、かぎられたV β 遺伝子(マウスではV β 8.2, V β 7, V β 2, ヒトではV β 11)と会合するため、TCRの可変性が乏しく、また、主要組織適合遺伝子複合体(major histocompatibility complex: MHC)クラスI類似のCD1d分子に提示された糖脂質を抗原として認識する。CD1d分子は β 2マイクログロブリンと非共有

Key Words

NKT細胞
糖脂質抗原
サイトカイン

* MIYAKE Sachiko/国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部



図① NKT 細胞とその合成リガンド

V α 14 NKT 細胞は、半可変性 T 細胞レセプターを発現し、多型性のない CD 1 分子に提示される糖脂質を抗原として認識する。活性化に伴い、すみやかにサイトカインを産生しさまざまな免疫調節に関与する。

結合したヘテロ二量体として細胞表面に発現し、MHC クラス I 分子に類似している (図①). CD 1 ファミリーには、ヒトではグループ 1 CD 1 (CD 1 a, b, c) とグループ 2 CD 1 (CD 1 d) が知られているが、マウスでは CD 1 d 分子のみが存在する。CD 1 分子は、MHC 分子と異なり多様性がないため、同一種内では共通である。CD 1 d 分子は、抗原結合溝はきわめて疎水性である。抗原結合溝が疎水性であること、NKT 細胞の発生が抗原関連トランスポーター (TAP) 非依存性であること、他の CD 1 ファミリー分子が結核菌細胞壁の構成脂質であるミコール酸やレプラ菌の細胞壁糖脂質であるリポアラビノマンナン (lipoarabinomannan : LAM) を抗原提示することなどから、CD 1 d に抗原提示を受ける NKT 細胞も、蛋白ではなく糖脂質をリガンドとして認識すると考えられた。直接的な証明としては、NKT 細胞のリガンドとして、Kawano ら⁴⁾が海綿の成分である α -GC が NKT 細胞のリガンドとなることを発見したことである。 α -GC は哺乳類の体内に存在することは証明されていないので、NKT 細胞の生体内での抗原が何かについては、研究

がつづけられている。ヒトの臍帯血中の NKT 細胞や、Germ free マウスの NKT 細胞もすでにメモリーマーカーが陽性であることから、何らかの自己抗原を認識しているのではないかと考えられている。これまで、内因性抗原としては、グリコシルホスファチジルイノシトール (glycosylphosphatidylinositol : GPI), ガングリオシド GD 3, ホスフォエタノールアミン (phosphoethanolamine : PE) などがリガンドとして報告されている⁵⁾⁻⁷⁾。また、外来抗原としては、Leishmania 由来のグリコイノシトールリン脂質 (glycoinositol phospholipids : GIPLs) やリポホスフォグリカン (lipophosphoglycan : LPG), Sphingomonas 由来のスフィンゴ糖脂質 (glycosphingolipid : GSL) などが報告されている⁸⁾。機能的な特徴としては、TCR を介した刺激によりインターロイキン (IL)-4, インターフェロン (IFN)- γ を含む多くのサイトカインを短時間で大量に産生することから、感染症、癌免疫、移植などさまざまな場面でその免疫調節機能が注目されている¹⁻³⁾⁹⁾¹⁰⁾。

2. 自己免疫疾患と NKT 細胞

NKT 細胞は、多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS), I 型糖尿病 (T1D), 進行性全身性硬化症, 関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA), 全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus : SLE), シェーグレン症候群 (Sjögren syndrome : SjS) などの自己免疫疾患の末梢血においてその数が減少していることが報告されている¹¹⁾¹²⁾。またこれらの全身性自己免疫疾患では、NKT 細胞の代表的な糖脂質リガンドである α -GC に対する反応が低下していることが報告された。また、T1D から樹立した NKT 細胞クローンは、IFN- γ 産生に傾いているという報告がされており、NKT 細胞が自己免疫疾患病態に何らかの形で関与することが推測されている⁹⁾¹⁰⁾。

MS では、Araki ら¹³⁾が寛解期にある MS 患者では、健康人と比較して減少しているが、再発期には NKT 細胞の減少はむしろ軽度であることを報告している。この際、減少しているのは DN-NKT 細胞であり、CD4⁺NKT 細胞は寛解期、再発時ともに減少していなかった。サイトカイン産生に関しては、DN NKT 細胞では寛解期に IL-4, IFN- γ ともに産生の低下がみられたが、CD4⁺NKT 細胞では寛解期にむしろ IL-4 の産生亢進がみられた。実際に、自己免疫疾患において NKT 細胞がどのような機能を果たしているかについては不明であるが、MS 寛解期には IFN- γ などのサイトカインを産生する DN-NKT 細胞数が減少し、残存している CD4⁺NKT 細胞の IL-4 産生能があがっていることを考えると、MS 寛解期において NKT 細胞は疾患を抑制するようにはたらいっていることが推定される。

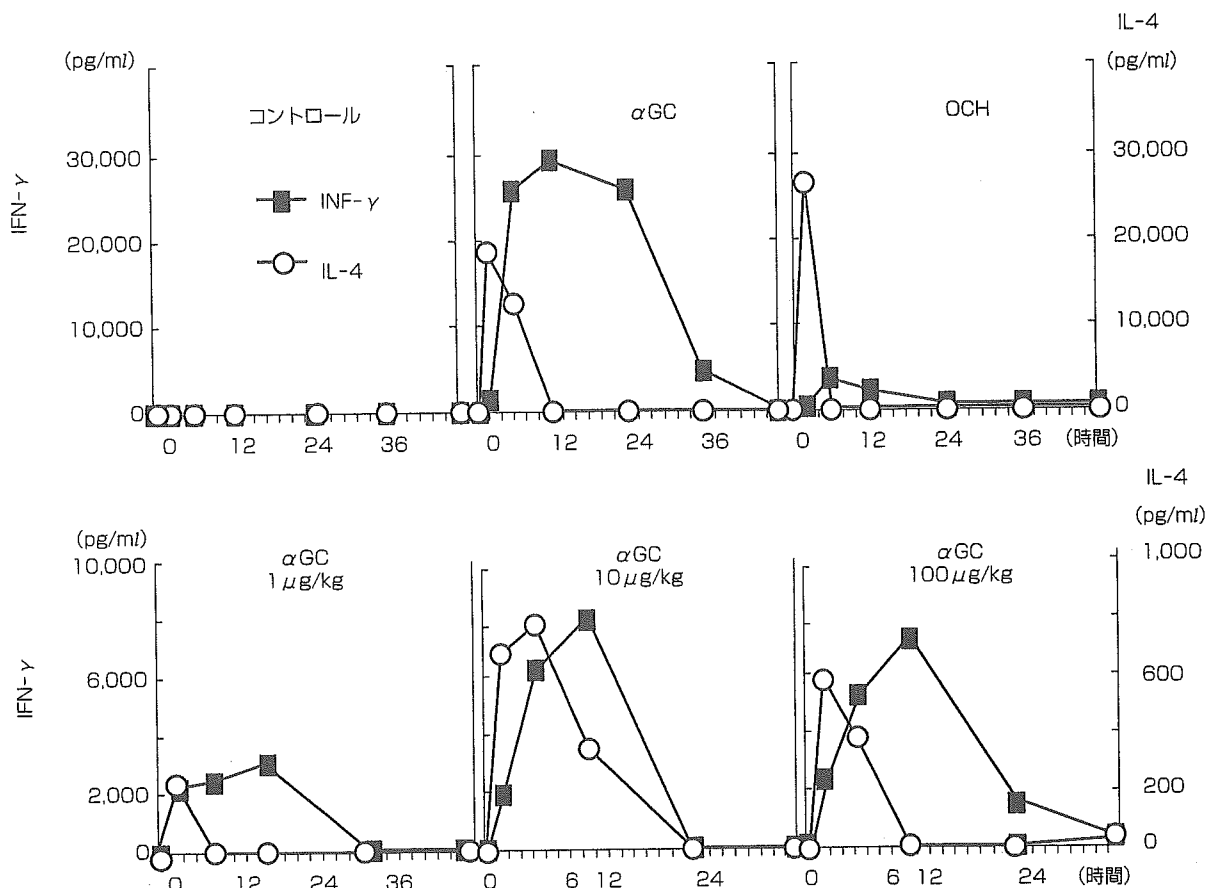
3. 変異リガンドとその生物活性

前述のように、NKT 細胞が糖脂質を認識することはわかったが、生体内で抗原は詳細が不明である。そこで、現在は NKT 細胞を選択的に刺激するためには一般的に α -GC が用いられている。NKT 細胞は IL-4 などの Th2 サイトカインを大量に産生できるため、IFN- γ を

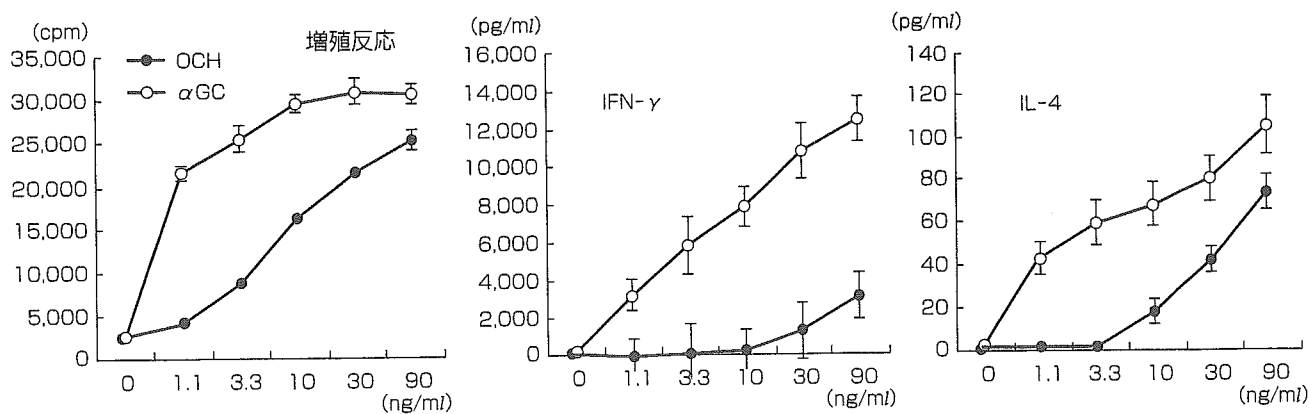
産生する Th1 サイトカインが病態悪化につながると考えられている Th1 優位な自己免疫疾患を抑制することが期待された。しかし、 α -GC は、NOD マウスにおける T1D は抑制するが、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE), コラーゲン関節炎 (collagen induced arthritis : CIA), 炎症性腸炎モデルなどの抑制効果は弱い^{14)~16)}。EAE では IFN- γ 遺伝子欠損マウスでは、 α -GC は病態を抑制することから、 α -GC が EAE に無効である理由は、NKT 細胞に Th1 抑制的な IL-4 だけでなく Th1 促進的な IFN- γ の産生を促すためであると考えられた¹⁴⁾。蛋白抗原では、1つのアミノ酸を置換させることによって刺激の性質を変化させ、サイトカイン産生が変化することが知られている (altered peptide ligand : APL)。APL は、MS では臨床治験もおこなわれたが、改善例とともに増悪例がみられ、治験は中止となった。これは、抗原提示細胞の多型性と関連していると考えられるが、CD1 には多型性がなく治療応用を考えると大きな利点がある。そこで、著者ら¹⁴⁾は糖脂質抗原も構造を変化させると、サイトカイン産生を変化させることができるのではないかと考え、 α -GC の変異体を作成し、その1つであるスフィンゴシン鎖を短縮した OCH では、IFN- γ の産生が低下し、IL-4 の選択的産生がみられた (図2)。OCH は、CD1 結合部位であるスフィンゴシン鎖の短縮体であるため、CD1 との結合安定性が α -GC より悪いことが予想される。スフィンゴシン鎖の長さを変えた変異体を用いて、CD1 との結合性を検討するとスフィンゴシン鎖の長さ、CD1 結合安定性は相関することがわかった。

また、スフィンゴシン鎖の長さ、IFN- γ 産生刺激も相関した。NKT 細胞を固相化 CD3 抗体で刺激時間を変えながら刺激すると、IFN- γ 産生に必要な刺激時間は、IL-4 産生に必要な刺激時間より長い。このことから、スフィンゴシン鎖短縮体は、CD1 結合安定性が悪く、TCR から刺激を入れる時間が短くなるために IFN- γ 産生が起りにくくなると考えられる¹⁷⁾。In vivo に糖脂質を投与した際にみられる血清中の IFN- γ の上昇は、NKT 細胞以外にも、NK 細胞なども関与していると考えられる。OCH を投与した場合は、NKT 細胞からの IFN- γ 産生が低く、また NKT 細胞上の CD40L の発現も弱いこと

A 血中サイトカイン変動



B 脾臓細胞の反応



図② 合成糖脂質に対する NKT 細胞の反応

A : B6 マウスに α -GC を投与すると、IFN- γ 、IL-4 とともに血清中に増加する。OCH を投与すると、IL-4 が選択的に上昇する。 α -GC の濃度を下げても IL-4 が選択的には上昇しないので、OCH は α -GC とは異なるシグナルを与えると考えられる。

B : *In vitro* での脾細胞の増殖は OCH は α -GC より弱い。サイトカイン産生については、*in vivo* の結果と関連し、OCH は IL-4 を選択的に産生させる。