

図3 合成糖脂質による自己免疫疾患モデル抑制効果 (Chiba A *et al*, 2004¹⁵⁾, Ueno Y *et al*, in press¹⁶⁾, Mizuno M *et al*, in press¹⁹⁾より改変引用)
 OCHは実験的自己免疫性脳脊髄炎, コラーゲン関節炎, NODマウスにおける糖尿病, DSS腸炎などのTh1優位な自己免疫疾患モデルの病態を抑制する。NODマウスにおける糖尿病は、 α -GCによってもよく抑制される。
 **p<0.05

から、抗原提示細胞からのIL-12の産生が α -GC投与とくらべて低くなり、他の細胞がIFN- γ を産生するに至るカスケードの形成が起こらないと考えられる(論文投稿中)。この他、現在さまざまな糖脂質を合成し、NKT細胞の機能を有効に引き出す物質を探索する研究が、著者らも含めて複数の研究グループで進行中である。

4. 自己免疫疾患モデルにおける合成糖脂質療法

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MS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NKT細胞の役割は、NKT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、重症化と報告がわかれている。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NKT細胞活性化については、マウスの系統によって差はあるものの α -GCがEAEを抑制するという報告もある。しかし自験データでは α -GCはEAEをほとんど抑制しない。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、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。そこで、NKT細胞にIL-4だけを産生させることができるOCHをEAE誘導時に経口投与するとEAEは強く抑制された(図3)。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MOG₃₅₋₅₅IgG1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¹⁴⁾。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NKT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

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、NKT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、NKT細胞の異常が指摘され、自己免疫病態とNKT細胞の関連が最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、NKT細胞を移入したり、V α 14-J α 281レセプター遺伝子を導入してNKT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、糖尿病が抑制されることが報告されている¹⁸⁾。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NKT細胞が糖尿病発症に抑制的にはたら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、NKT細胞の適切な刺激が疾患抑制作用をもつことは明らかとなった⁹⁾。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(図3)¹⁹⁾。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²⁰⁾。

3) 関節炎

RA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事が報告されている。NKT細胞は、肝単核球もしくは末梢血中のNKT細胞はCIAのピーク時には増加する。CD1もしくは、NKT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NKT細胞は病態悪化に関与しているようである²¹⁾。炎症期の解析に有用な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、NKT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²¹⁾。糖脂質の効果としては、 α -GC投与でCIAはほとんど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。また、自己免疫疾患患者でみられるようなNKT細胞の少ないSJLマウスにおける関節炎も抑制し、関節炎発症後

の投与でも関節炎は軽快した(図3)¹⁵⁾。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) その他の自己免疫疾患モデル

自己免疫の関与が推定される炎症性腸炎モデルであるデキストラン硫酸ナトリウム誘起大腸炎(DSS腸炎)においても、合成糖脂質による治療効果が検討されている。このモデルもTh1優位な病態と考えられているが、EAEやCIAのように α -GCの抑制効果はかぎられたものであるのに対し、OCHは抑制効果が強い(図3)¹⁶⁾。

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NKT細胞数が、BALB/c、C3H、C57BL/6など他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NKT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。NZB/W 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、NKT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、NKT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、NKT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⁹⁾。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。

5. ヒト NKT 細胞の合成糖脂質に対する反応性

NKT 細胞の糖脂質抗原認識については TCR, CD1 分子ともに種を越えてよく保存されており, α -GC は, マウス, ヒト NKT 細胞ともに認識する。ヒト末梢血の NKT 細胞は, 増殖率は α -GC に比較して弱い⁶⁾が α -GC 変異体である OCH にも反応して増殖する。また, RA や MS の患者末梢血の NKT 細胞も α -GC のみでなく, OCH に対しても反応して増殖することから, OCH も臨床応用に期待がもてる。

おわりに

NKT 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他に類をみないほどの可能性をもつ細胞である。一口に自己免疫疾患といっても病態はさまざまであり, NKT 細胞の関与も一様ではないが, 治療標的としては魅力的である。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リガンドの開発がおこなわれるようになり, 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。



文献

- 1) Bendelac A, Rivera MN, Park S *et al* : Mouse CD1-specific NK1 T cells : development, specificity, and function. *Annu Rev Immunol* **15** : 535-562, 1997
- 2) Brigi M, Brenner MB : CD1 : antigen presentation and T cell function. *Annu Rev Immunol* **22** : 817-890, 2004
- 3) Taniguchi M, Harada M, Kojo S *et al* : The regulatory role of $V\alpha$ 14 NKT cells in innate and acquired immune response. *Annu Rev Immunol* **21** : 483-513, 2003
- 4) Kawano T, Cui J, Koezuka Y *et al* : CD1d-restricted and TCR-mediated activation of $V\alpha$ 4 NKT cells by glycosylceramides. *Science* **278** : 1626-1629, 1997
- 5) Joyce S, Woods AS, Yewdell JW *et al* : Natural ligand of mouse CD1d1 : cellular glycosylphosphatidylinositol. *Science* **279** : 1541-1544, 1998
- 6) Wu DY, Segal NH, Sidobre S *et al* : Cross-presentation of disialoganglioside GD3 to natural killer T cells. *J Exp Med* **198** : 173-181, 2003
- 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* **278** : 47508-47515, 2003
- 8) Kawahara K, Moll H, Knirel YA *et al* : Structural analysis of two glycosphingolipids from the lipopolysaccharide-lacking bacterium *Sphingomonas capsulata*. *Eur J Biochem* **267** : 1837-1846, 2000
- 9) Miyake S, Chiba A, Yamamura T : Potential of targeting natural killer T cells for the treatment of autoimmune diseases. *Mod Rheumatol* **14** : 279-284, 2004
- 10) Wilson SB, Delovitch TL : Janus-like role of regulatory iNKT cells in autoimmune disease and tumour immunity. *Nat Rev Immunol* **3** : 211-222, 2003
- 11) Sumida T, Sakamoto A, Murata H *et al* : Selective reduction of T cells bearing invariant $V\alpha$ 24 J1Q antigen receptor in patients with systemic sclerosis. *J Exp Med* **182** : 1163-1168, 1995
- 12) Kojo S, Adachi Y, Keino H *et al* : Dysfunction of T cell receptor αV 24 αJ 18+, βV 11+ double-negative regulatory natural killer T cells in autoimmune diseases. *Arthritis Rheum* **44** : 1127-1138, 2001
- 13) Araki M, Kondo T, Gumperz JE *et al* : Th2 bias of CD4⁺ NKT cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol* **15** : 279-288, 2003
- 14) Miyamoto K, Miyake S, Yamamura T : A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing TH2 bias of natural killer T cells. *Nature* **413** : 531-534, 2001
- 15) 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* **50** : 305-313, 2004
- 16) Ueno Y, Tanaka S, Sumii M *et al* : Single dose of OCH improves mucosal Th1/Th2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of $V\alpha$ 14 NKT cells in mice. *Inflamm Bowel Disease* (in press)
- 17) Oki S, Chiba A, Yamamura T *et al* : The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells. *J Clin Invest* **113** : 1631-1640, 2004
- 18) Falcone M, Facciotti F, Ghidoli N *et al* : Up-regulation of CD1d expression restores the immunoregulatory function of NKT cells and prevents autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol* **172** : 5908-5916, 2004

- 19) Mizuno M, Masumura M, Tomi C *et al* : Synthetic Glycolipid OCH prevents insulinitis and diabetes in NOD mice. *J Autoimmun* (in press)
- 20) 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* 53 : 1303-1310, 2004
- 21) Chiba A, Kaieda S, Oki S *et al* : The participation of Va 14 NKT cells in the pathogenesis of murine models of arthritis. *Arthritis Rheum* (in press)

免疫調節細胞と自己免疫疾患

三宅幸子

国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部

自己抗原への免疫寛容を維持する機構の一つとして, 多彩な免疫調節細胞が注目されている。これらのなかでも比較的解析の進んでいる NKT 細胞, NK 細胞, 抑制性 T 細胞に焦点をあて, これらの調節細胞が自己免疫疾患や動物モデルでどのように関与しているかについて概説する。

Key words inhibitory T cell, NKT cell, NK cell

自己免疫疾患は, 自己の抗原に対する免疫寛容が破綻した状態と考えられている。自己抗原への T 細胞の免疫寛容においては, まず胸腺で自己反応性細胞の除去が起こる (clonal deletion)。clonal deletion は完全でないため, それを逃れた自己反応性 T 細胞が末梢に存在する。末梢では, これらの自己反応性 T 細胞が自己抗原に対して反応しない, もしくは刺激に対するサイトカイン産生能の変化などが起こって組織障害を起こさないという機構が存在していると考えられる。このような末梢での免疫寛容を維持する機構の一つとして, さまざまな免疫調節細胞による制御が注目されている。本稿では, 抑制性 T 細胞, NKT 細胞, NK 細胞について, 自己免疫疾患との関連について概説する。

抑制性 T 細胞

末梢において, 自己反応性 T 細胞の活性化を抑制している T 細胞亜集団の存在は多くの実験系において指摘されてきた。特に 1995 年に, 坂口らが CD4⁺CD25⁺T 細胞を抑制性 T 細胞の一つの細胞集団として同定してから, 制御性 T 細胞の研究が再びクローズアップされるようになった¹⁻³⁾。抑制性 T 細胞としては, CD4⁺CD25⁺T 細胞以外にも多彩な細胞が報告されている (表 1)。

CD4⁺細胞では, ここ数年で最も精力的に研究されてきた CD4⁺CD25⁺T 細胞について概説する。CD25 分子 (IL-2 α 鎖) は, T 細胞の活性化マーカーとしてとらえられてきたが, 未感作マウスにおいて CD4⁺T 細胞の 5~10% がすでに CD25

Regulatory cells in autoimmunity

Sachiko Miyake

みやけ・さちこ 1987 年東京医科歯科大学医学部卒業。順天堂大学で内科臨床研修後, 94 年同大学膠原病内科大学院修了。ハーバード大学に留学し, シグナル伝達に関する研究に従事。99 年より国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部免疫異常研究室長。現在は, NKT 細胞を中心に免疫調節細胞を介した自己免疫治療法の研究に従事。

表1 抑制性T細胞

細胞の種類	機序
CD4 ⁺ T細胞	
CD4 ⁺ CD25 ⁺ T	cell-cell contact, IL-10, TGF- β
Th3	TGF- β
Tr1	IL-10, TGF- β , IFN- γ
CD8 ⁺ T細胞	
Qa-1 restricted CD8 ⁺ T	cytotoxicity
CD122 ⁺ CD8 ⁺ T	

Th: ヘルパー T 細胞, Tr: 制御性 T 細胞

分子を発現している。坂口らは、BALB/c マウス脾臓細胞から CD25⁺T 細胞を除去した細胞を同系ヌードマウスに移入すると、さまざまな臓器に自己免疫病が誘導され、また細胞移入の際に CD4⁺CD25⁺T 細胞を戻すと自己免疫病が起こらなくなることから、CD4⁺CD25⁺T 細胞が自己反応性 T 細胞を抑制することを示した²⁾。マウスでは CD4⁺CD25⁺T 細胞は CD5, LFA-1, CD44, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) などを発現していることから、いったん刺激を受けた細胞と推定される。CD4⁺CD25⁺T 細胞は *in vitro* で抗原提示細胞存在下に CD4⁺CD25⁻T 細胞の増殖を阻害する。この抑制機構には、CD4⁺CD25⁺T 細胞、抗原提示細胞、CD4⁺CD25⁻T 細胞の細胞接触が必要とされる。一方、CD4⁺CD25⁺T 細胞による自己反応性 T 細胞の抑制機構には IL-10 や transforming growth factor β (TGF- β) の関与も報告されている。また CD4⁺CD25⁺T 細胞は、CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4) や腫瘍壊死因子 (TNF) レセプターファミリーに属する GITR (glucocorticoid-induced TNF receptor family gene) 分子を発現しており、これらの分子に対する抗体で CD4⁺CD25⁺T 細胞による抑制作用が中和されることが報告されている。

遺伝的自己免疫病である IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome) と、X 染色体劣性遺伝で自己免疫症状を呈する Scurfy マウスの疾患原因遺

伝子としてクローニングされた Foxp3 は、CD4⁺CD25⁺T 細胞に特異的に発現する分子として報告された。Foxp3 は CD4⁺CD25⁻T 細胞を活性化しても発現しないことから、CD25, CTLA-4, GITR などと比較して内在性制御性 T 細胞の特異性の高いマーカーであると考えられている。Foxp3 は、CD4⁺CD25⁻T 細胞に強制発現させると CD4⁺CD25⁺T 細胞と同様の表現型、機能を獲得するので、CD4⁺CD25⁺T 細胞の分化のマスター遺伝子と考えられる。

マウスでは、CD25⁺細胞除去脾細胞の移入で起こる胃炎、卵巣炎、甲状腺炎などのほか、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE)、コラーゲン関節炎 (CIA)、NOD マウスにおける 1 型糖尿病 (T1D) など、さまざまな自己免疫疾患モデルでも CD4⁺CD25⁺T 細胞が病態を抑制することが報告された。ヒトの自己免疫疾患との関連では、関節リウマチ (RA) では、末梢血中の CD4⁺CD25⁺T 細胞の頻度は健常人と差がないが、関節局所ではむしろ増加していることが報告された⁴⁾。このグループは、関節局所では、CD4⁺CD25⁺T 細胞のなかでも特に CD25 発現が高い CD25^{bright}が増加しており、この細胞群は CD4⁺CD25⁻T 細胞抑制効果をもっていることを示した。また別のグループは、末梢血でも関節液中でも CD4⁺CD25⁺T 細胞の頻度は健常人末梢血より増加していると報告した⁵⁾。また、抗 TNF 治療により CD4⁺CD25⁺T 細胞の抑制機能が回復するという報告がなされたが⁶⁾、異論もあり、今後の検討が待たれる。T1D では CD4⁺CD25⁺T 細胞の頻度が減少しているという報告がある⁷⁾。

CD8⁺細胞には、以前から免疫抑制作用があることが報告されていた。主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス I 類似の MHC クラス Ib 分子である Qa-1 分子を認識する CD8⁺T 細胞は、T 細胞ワクチンやスーパー抗原を用いた実験系で、T 細胞レセプター (TCR) β 鎖特異的に CD4⁺T 細胞を抑制することが報告されている^{8,9)}。また最近、CD122 (IL-2, IL-15 レセプター β 鎖) の遺

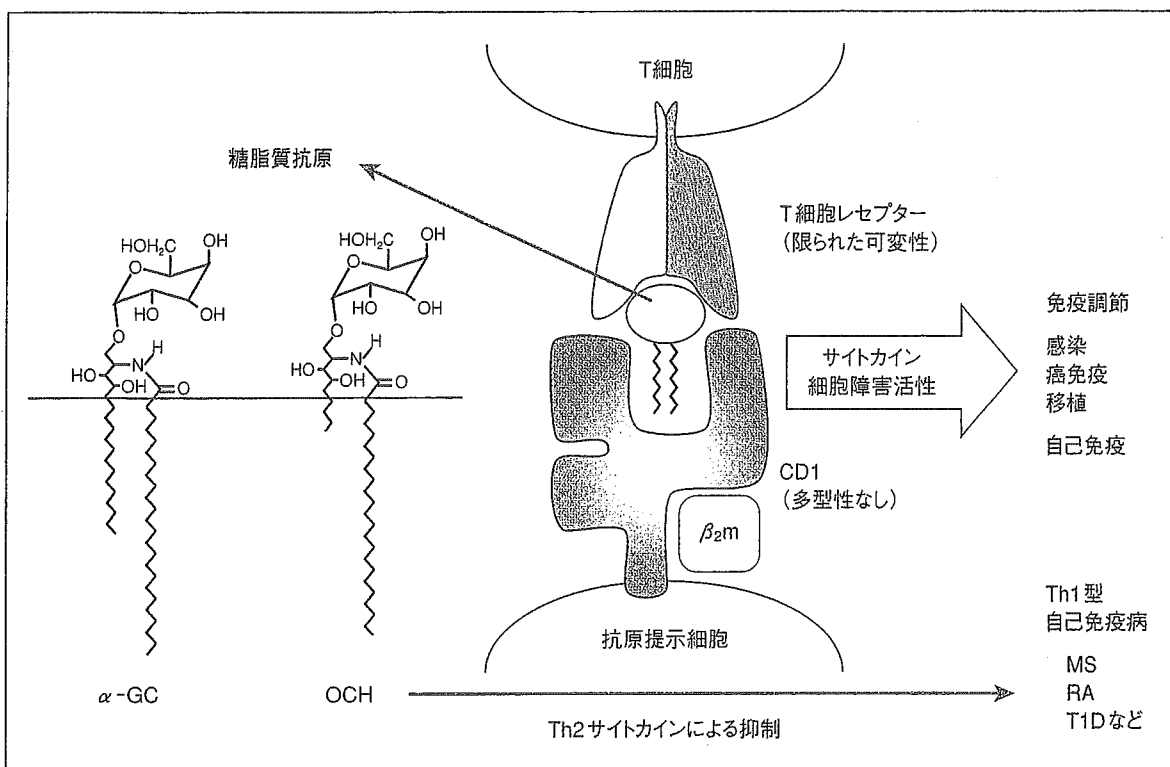


図1 NKT細胞による免疫調節

β_2m : β_2 -ミクログロブリン, MS: 多発性硬化症

伝子欠損マウスでは、異常にT細胞が活性化することが報告されているが、活性化 $CD4^+$, $CD8^+$ T細胞を抑制する制御性 $CD122^+CD8^+$ 細胞の欠如がその原因であるということが報告された¹⁰⁾。

このほかにも、さまざまな制御性細胞が報告されているが、それらの細胞を細胞表面抗原などで特定することができれば、さらに詳細な解析が進むと考えられる。

NKT細胞

NKT細胞は、NK(ナチュラルキラー)マーカーを発現するT細胞であり、肝臓や骨髄に多く存在している^{11, 12)}。その多くはTCR α 鎖に可変性のないinvariant鎖(マウスでは $V\alpha 14J\alpha 281$, ヒトでは $V\alpha 24J\alpha Q$)を発現し、限られた $V\beta$ 遺伝子(マウスでは $V\beta 8.2$, $V\beta 7$, $V\beta 2$, ヒトでは $V\beta 11$)と会合するため、TCRの可変性が乏しい。また、MHCクラスIb分子であるCD1d分子に提示された糖脂質を抗原として認識するのが

大きな特徴である。CD1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。

NKT細胞の糖脂質抗原としては、海綿の成分である α -ガラクトシルセラミド(α -GC)が知られているが¹³⁾(図1)、 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。NKT細胞の生体内での抗原が何かについてはまだ不明であるが、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、なん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。機能的な特徴としては、TCRを介した刺激によりIL-4, 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. 自己免疫疾患とNKT細胞

NKT細胞は、多発性硬化症(MS)、T1D、進行性全身性硬化症、RA、全身性エリテマトーデス(SLE)、Sjögren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¹⁴⁾。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ほか、T1Dから樹立したNKT細胞クローンは、IFN- γ 産生に傾いていることなど、機能的な異常も報告され、NKT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。ただし、T1Dでは、NKT細胞数の減少が追試できないという報告があり、渾沌とした状況になっている。

荒木、山村らは、寛解期にあるMS患者では、健康人と比較してNKT細胞が減少しているが、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¹⁵⁾。その際、減少しているのはDN (double negative)-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、DN-NKT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⁺NKT細胞のIL-4産生能が上昇し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働いていることが推定される。

2. NKT細胞と自己免疫疾患モデル

EAEは難治性神経疾患であるMSの動物モデルで、Th1細胞が介在する自己免疫病である。自験データでは、NKT細胞の代表的な糖脂質リガンドである α -GCはEAEを抑制しなかった。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¹⁶⁾。そこで、NKT細胞にIL-4だけを産生

させる糖脂質リガンドの探索を試みたところ、 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¹⁶⁾(図1)。その選択的なIL-4誘導能に一致して、OCH投与によりEAEは強く抑制された。その後 α -GCの投与方法の違いでEAEが抑制されるということが報告されたが、 α -GC刺激による治療効果については見解が一致していない。

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、NKT細胞数の減少、活性化によるサイトカイン産生能の不良など、NKT細胞の異常が指摘され、自己免疫病態とNKT細胞の関連が最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NKT細胞を移入したり、V α 14J α 281レセプター遺伝子を導入してNKT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、 α -GCを投与すると膵島抗原に対する反応がTh2偏倚を起し、NODマウスにおける糖尿病発症を抑制することも報告され、NKT細胞の適切な刺激が疾患抑制作用をもつことが示された¹²⁾。

RAの動物モデルであるCIAでは、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ということが報告されている。肝単核球もしくは末梢血中のNKT細胞はCIAのピーク時には増加する。CD1もしくはNKT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マウスにおける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比が対照群に比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。NODマウスとは異なり、CIAの自然経過においてはNKT細胞は病態悪化に関与しているようである¹⁷⁾。炎症期の解析に有用な関節炎モデルである抗体誘導性関節炎も、CD1ノックアウトマウス、NKT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、NKT細胞が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¹⁷⁾。

糖脂質の効果としては、 α -GC投与でCIAはほとんど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。また、OCHは自己免疫疾患患者でみられるようなNKT細胞の少ないSJLマウスにおける関節炎も抑制し、関節炎発症後の投与でも関節炎は軽快した¹⁸⁾。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。

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NKT細胞数が、BALB/c、C3H、C57BL6など、他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NKT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/W 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、NKT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るNKT細胞数の減少、 α -GC投与によるサイトカイン産生の低下、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、NKT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、NKT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。特にTh1優位の臓器特異的自己免疫疾患では、糖脂質療法が期待できる(図1)。

NK細胞

NK細胞は自然免疫を担う細胞で、サイトカイン産生や細胞障害活性などにより、感染や癌、移植拒絶反応など多くの免疫調節を行う細胞である。

1. NK細胞と自己免疫疾患

SLE、RA、MS、T1Dなどでは、末梢血中のNK活性の低下やNK細胞数の減少が報告されている^{19, 20)}。SLEでは、CD16⁺CD56⁺NK細胞は活動性の高いグループで少なく、特に重症腎炎で少ないという報告がある。IgGのFcレセプター(Fc γ RIIIa = CD16)の多型性については、176位のバリン(V)がフェニルアラニン(F)になるとIgGとの結合能が弱くなるが、176F/FはSLE、特に腎症との相関が報告されている。これは、NK細胞の機能とSLEの発症との相関を示唆する興味深い報告である。RAにおいても、末梢血中のNK活性の低下の報告があるが、関節局所ではNK細胞の表現型が末梢血とは異なり、IL-12、IL-15などのサイトカイン刺激によりIFN- γ などのサイトカイン産生能が高いという報告もあり、NK細胞が局所で病態形成に関与している可能性もある²¹⁾。

MSでは、NK活性が低下しているとする報告と、正常人と違いがないという報告がある。さらに再発時には低下するが、寛解期には正常になるという報告、一卵性双生児で罹患していないヒトについてはNK活性が正常という報告などを考えると、疾患活動性によりNK活性が変化していることが推定される。高橋らは、MS寛解期には細胞の数は変化がないが、NK細胞のIL-5産生が亢進しており、再発時にはこの傾向が失われたことを報告した²²⁾。MS寛解期では、NK細胞が

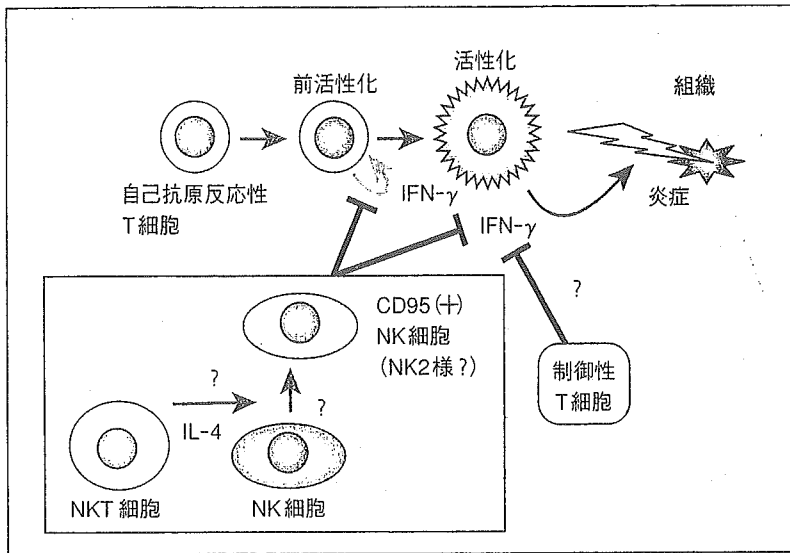


図2 制御性T細胞, NKT細胞, NK細胞による免疫調節

さまざまな制御性T細胞や, NKT細胞, NK細胞が相互作用して, 自己反応性T細胞の末梢での活性化を抑制すると考えられる。(Takahashi T, et al. Brain 2004 ; 127 : 1917-27²³⁾より改変)

NK2型になって, Th1細胞の活性化を抑制している症例があると推定される. また, MS寛解期のNK細胞では, Fas抗原を高発現している症例がある. このような症例では, 末梢血からNK細胞を除去して髄鞘タンパク質抗原であるミエリン塩基性タンパク質(MBP)に反応してIFN- γ を産生するT細胞をフローサイトメトリーで検出できるようになる. この現象は, 健常人やFas抗原を高発現していない症例ではみられず, MSの一部の症例では寛解期にNK細胞が自己反応性T細胞を抑制していることが示唆される.

しかし, NK細胞の自己反応性T細胞抑制の機序は, サイトカインによるのか, あるいは樹状細胞などに対する細胞障害によるのか, 他の機序があるのかまだわかっていない²³⁾. また, NK細胞の数や機能異常が自己免疫疾患の発症因子になるかどうかについては不明であるが, これまでの報告ではNK活性は病勢の変化に影響されるようなので, ストレスやウイルス感染を契機に病態が増悪するような背景には, NK細胞の関与がある可能性がある.

2. NK細胞と自己免疫疾患モデル

ループスモデルの一つであるC57BL/6.lprマウスでは, 抗ds(double stranded)-DNA抗体産生B細胞が抗NK1.1抗体によるNK細胞の除去により増加し, NK細胞移入で減少すると報告

された¹⁹⁾. いずれの結果もNKT細胞を含む細胞群を除去もしくは移入しているため, NK細胞のみの作用かどうかについては今後の検討が必要であるが, NK細胞が病態抑制的に働いていることを示唆する. 別のループス自然発症モデルであるNZB/W F₁マウスでは, 肝NK細胞のNK活性は臨床症状出現時には高いことが報告されたが, その役割については不明である. EAEでは, マウスでもラットでも抗体によるNK細胞除去により病態が悪化することが報告されている²⁴⁾. 自験データではCIAでもNK細胞除去で関節炎は増悪し, 活性化NK細胞移入で軽減した. 一方, 重症筋無力症のモデルでは, NK細胞除去によって病態は軽減することが報告されている²⁵⁾. 以上の結果から, 自己免疫モデルではNK細胞は保護的に働く場合もあるが, エフェクター細胞として病態形成に関与する場合もあるようである.

生体内では多くの細胞が協調して自己免疫を抑制し, 外来抗原への免疫を効率的に行っていると考えられる(図2). さまざまな免疫制御細胞が報告されているが, 各細胞の特徴, 作用機序, 相互作用など複雑で不明な点が多い. 今後, さらに新しい制御性細胞も同定されるであろうし, その細胞間のネットワークも解明され, 選択的な免疫調節が可能になっていくことが期待される.

- 1) Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2004 ; 22 : 531-62.
- 2) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995 ; 155 : 1151-64.
- 3) von Herrath MG, Harrison LC. Antigen-induced regulatory T cells in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2003 ; 3 : 223-32.
- 4) Cao D, Malmstrom V, Baecher-Allan C, et al. Isolation and functional characterization of regulatory CD25^{bright} CD4⁺T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 2003 ; 33 : 215-23.
- 5) van Amelsfort JM, Jacobs KM, Bijlsma JW, et al. CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in rheumatoid arthritis : Differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid. *Arthritis Rheum* 2004 ; 50 : 2775-85.
- 6) Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF alpha therapy. *J Exp Med* 2004 ; 200 : 277-85.
- 7) Kukreja A, Cost G, Marker J, et al. Multiple immuno-regulatory defects in type-1 diabetes. *J Clin Invest* 2002 ; 109 : 131-40.
- 8) Jiang H, Chess L. The specific regulation of immune responses by CD8+ T cells restricted by the MHC class Ib molecule, Qa-1. *Annu Rev Immunol* 2000 ; 18 : 185-216.
- 9) Hu D, Ikizawa K, Lu L, et al. Analysis of regulatory CD8 T cells in Qa-1 deficient mice. *Nat Immunol* 2004 ; 5 : 516-23.
- 10) Rifa'i M, Kawamoto Y, Nakashima I, Suzuki H. Essential roles of CD8+CD122+ regulatory T cells in the maintenance of T cell homeostasis. *J Exp Med* 2004 ; 200 : 1123-34.
- 11) Brigl M, Brenner MB. CD1 : Antigen presentation and T cell function. *Annu Rev Immunol* 2004 ; 22 : 817-90.
- 12) Hammond KJL, Godfrey DI. NKT cells : Potential targets for autoimmune disease therapy? *Tissue Antigens* 2002 ; 59 : 353-63.
- 13) Kawano T, Cui J, Koezuka Y, et al. CD1d-restricted and TCR-mediated activation of V α 14 NKT cells by glycosylceramides. *Science* 1997 ; 278 : 1626-9.
- 14) 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 : 1127-38.
- 15) Araki M, Kondo T, Gumperz JE, et al. Th2 bias of CD4⁺T cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol* 2003 ; 15 : 279-88.
- 16) Pal E, Tabira T, Kawano T, et al. Costimulation-dependent modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by ligand stimulation of V α 14 NK T cells. *J Immunol* 2001 ; 166 : 662-8.
- 17) Chiba A, Kaieda S, Oki S, et al. The participation of V α 14 NKT cells in the pathogenesis of murine models of arthritis. *Arthritis Rheum*, in press.
- 18) Chiba A, Oki S, Miyamoto K, et al. Natural killer T-cell activation by OCH, a sphingosine truncated analogue of α -galactosylceramide, suppresses collagen induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2004 ; 50 : 305-13.
- 19) Baxter AG, Smyth MJ. The role of NK cells in autoimmune disease. *Autoimmunity* 2002 ; 35 : 1-14.
- 20) Flodstrom M, Shi F-D, Sarvetnick N, Ljunggren H-G. The natural killer cell—Friend or foe in autoimmune disease? *Scand J Immunol* 2002 ; 55 : 432-41.
- 21) Dalbeth N, Callan MFC. A subset of natural killer cells is greatly expanded within inflamed joints. *Arthritis Rheum* 2002 ; 46 : 1763-72.
- 22) Takahashi K, Miyake S, Kondo T, et al. Natural killer type 2 bias in remission of multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2001 ; 107 : R23-9.
- 23) Takahashi T, Miyake S, Endoh M, Yamamura T. The regulatory role for natural killer cells in the "smoldering" state of multiple sclerosis. *Brain* 2004 ; 127 : 1917-27.
- 24) Zhang B, Yamamura T, Kondo T, et al. Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by natural killer (NK) cells. *J Exp Med* 1997 ; 186 : 1677-87.
- 25) Shi F-D, Wang H-B, Li H, et al. Natural killer cells determine the outcome of B cell-mediated autoimmunity. *Nat Immunol* 2000 ; 1 : 245-51.

自己免疫病態調節と治療標的としてのNKT細胞

The regulatory role of NKT cells in autoimmunity



三宅 幸子

Sachiko MIYAKE

国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部

◎NKT細胞はNKマーカーを発現するT細胞の総称であるが、その多くはT細胞受容体(TCR) α 鎖に可変性のないinvariant鎖(マウスでは $V\alpha 14J\alpha 18$ 、ヒトでは $V\alpha 24J\alpha 18$)を発現している。 $V\alpha 14$ NKT細胞は多型性のない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。TCRを介した刺激によりIL-4、IFN- γ を短時間で大量に産生することから、その免疫調節機能が注目されている。感染症、自己免疫、癌免疫、移植免疫などの免疫反応のみならず、動脈硬化の病変形成にも関与している。また、NKT細胞を特異的に刺激して特定の機能を選択的に引き出す糖脂質の合成が行われており、臨床応用できる薬剤となる可能性がある。



Key word: NKT細胞, 糖脂質抗原, CD1, 自己免疫

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細胞受容体(TCR) α 鎖に可変性のないinvariant鎖(マウスでは $V\alpha 14J\alpha 18$ 、ヒトでは $V\alpha 24J\alpha 18$)を発現する細胞がもっとも解析が進んでいるため、本稿では $iV\alpha 14$ (ヒトでは $V\alpha 24$)NKT細胞について概説する。

NKT細胞は限られた $V\beta$ 遺伝子(マウスでは $V\beta 8.2$, $V\beta 7$, $V\beta 2$ 、ヒトでは $V\beta 11$)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(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¹⁾。CD1分子は $\beta 2$ ミクログロブリンと非共有結合したヘテロ二量体として細胞表面に発現し、MHC class I分子に類似している。CD1ファミリーにはヒトではグループ1-CD1(CD1a, CD1b, CD1c)とグループ2-CD1(CD1d)が知られているが、マウスではCD1d分子のみが存在する。CD1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。CD1d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CD1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(LAM)を抗原提示することなどから、CD1d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Taniguchiらが海綿の成分である α ガラクトシルセラミド(α -GC)がNKT細胞のリガンドとなることを発見したことがあげられる(図1)²⁾。 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こと、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、生体内では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、ガングリオシドGD3, glycosylphosphatidylinositol(GPI), phosphoethanolamine(PE)などが報告され、最近イソグロボシドが有力な抗原として示され

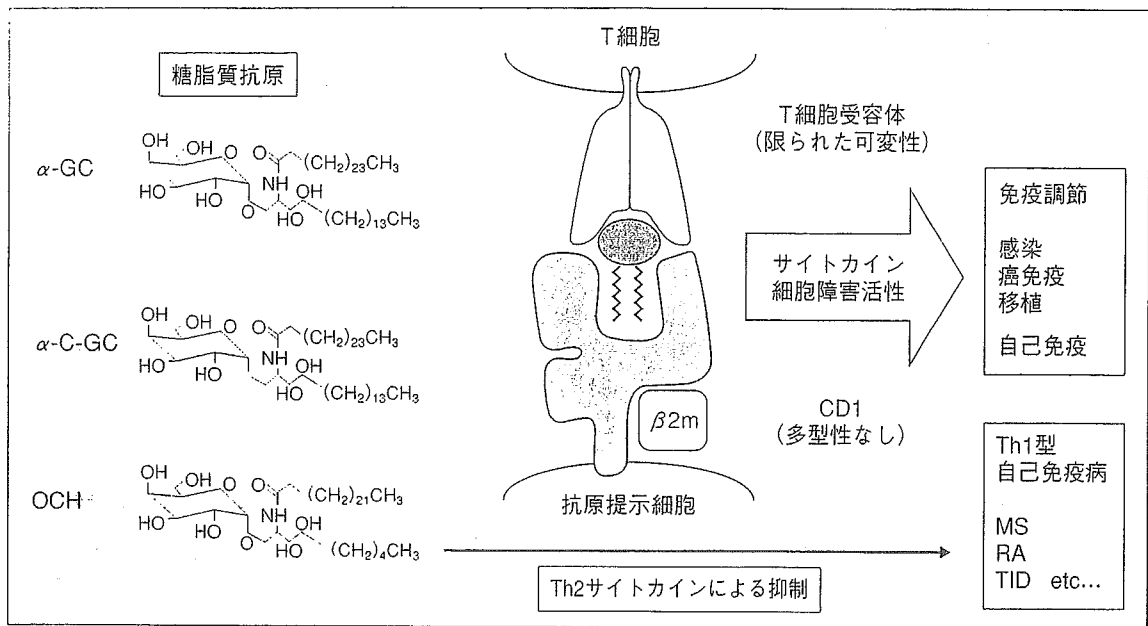


図 1 NKT細胞による免疫調節

NKT細胞は多型性のないCD1d分子に提示された糖脂質を抗原として認識する。多種類のサイトカインの迅速な産生能のために、多くの免疫調節に関与している。生体内では内在性の自己抗原を認識していると考えられているが、実験的には α -galactosylceramide(α -GC)が汎用されている。NKT細胞の特定の機能を引き出す合成糖脂質の探索が盛んに行われており、OCHや α -C-GCなどが知られている。OCHはTh2サイトカイン産生を選択的に誘導し、Th1優位な自己免疫を抑制する。

た³⁾。また、外来抗原としては Leishmania 由来の glycoinositol phospholipids (GIPLs) や lipophosphoglycan (LPG), Sphingomonas 由来の glycosphingo-

lipid (GSL) などが報告されている。

機能的な特徴としては、TCR を介した刺激により IL-4, 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、自己免疫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。 α -GC は抗癌剤として治験が進められているが、NKT細胞からの特定の機能を強く引き出す合成糖脂質を探索するという研究も進められている。その例としては、Th2 サイトカインの産生を選択的に誘導する OCH や IL-12 産生を強く誘導し、IFN- γ 依存性の作用を強く引き出す α -C-GC などが報告されている (図 1)^{4,5)}。

マウス V α 14J α 18 鎖はヒトでは V α 24J α 18 鎖として保存され、V 領域および J 領域の相同性はアミノ酸レベルでそれぞれ 62%、76% である。CDR3 は均一でマウスとの相同性は 90% と高率であり、CD1d 拘束性に α -GC を認識することができる。V β 鎖はマウスと同様に、比較的限定された V β 鎖を使用しているが、DNT 細胞の 93% 以上は V β 11 であったという報告があり、おもに V β 11 を使用していると考えられる。

NKT細胞は感染症、癌免疫、移植など多くの免

サイド
メモ

OCHによるTh2サイトカイン産生の機序

OCH は NKT 細胞を刺激して Th2 サイトカインを選択的に産生させる。その機序としては、 α -GC に比較して CD1d との結合安定性が弱いために、TCR から入る刺激時間が短く、そのために IFN- γ 産生に必要な c-Rel などの誘導が十分に起こらないことが一因となる。また、OCH はさらに NKT 細胞上の CD40L の誘導能も悪い。上記の機序により NKT 細胞からの IFN- γ 産生が少なくなると、CD40/CD40L を介した刺激が弱いことから、樹状細胞などの抗原提示細胞からの IL-12 の産生、それに引き続く NK 細胞からの IFN- γ 産生が少なくなる。IL-4 などの Th2 サイトカインの産生はよく保たれているために、全体として Th2 サイトカインが選択的に誘導されることになる。一方、 α -C-GC は抗原提示細胞からの IL-12 産生を増強することによって、NK 細胞からの IFN- γ 産生を強く引き起こすと考えられている。

疫調節に関与していることが報告されている。ここ数年ではとくに自己免疫、アレルギー、さらに動脈硬化などにおける NKT 細胞の役割の研究が進んだので、これらの知見も加えて概説する。

自己免疫疾患との関連

1. 自己免疫疾患と NKT 細胞

NKT 細胞は多発性硬化症 (MS), 1 型糖尿病 (T1D), 進行性全身性硬化症, RA, 全身性エリテマトーデス (SLE), Sjögren 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^{6,7)}。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ほか、T1D から樹立した NKT 細胞クローンは IFN- γ 産生に傾いていることなど機能的な異常も報告され、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。その後、T1D では NKT 細胞数の減少が追試できないという報告もあり、渾沌とした状況になっている^{8,9)}。

MS では Araki, Yamamura らが、寛解期にある MS 患者では健常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⁷⁾。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 細胞数や DN-NKT 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 $CD4^+$ NKT 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 NKT 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。

2. NKT 細胞と自己免疫疾患モデル

実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) は難治性神経疾患である MS の動物モデルで、Th1 細胞が介在

する自己免疫病である。自験データでは NKT 細胞の代表的な糖脂質リガンドである α -GC は EAE を抑制しなかった。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。そこで、NKT 細胞に IL-4 だけを産生させる糖脂質リガンドの探索を試み、 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⁴⁾ (図 1)。その選択的な IL-4 誘導能に一致して、OCH 投与により EAE は強く抑制された。その後、 α -GC の投与方法の違いで EAE が抑制されるということが報告されたが、 α -GC による刺激による治療効果については見解が一致していない。

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 NKT 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、NKT 細胞の異常が指摘され、自己免疫病態と NKT 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 NKT 細胞を移入したり V α 14-J α 18 受容体遺伝子を導入して NKT 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、 α -GC あるいは OCH を投与すると膵島抗原に対する反応が Th2 偏倚を起し、NOD マウスにおける糖尿病発症を抑制することも報告され、NKT 細胞の適切な刺激が疾患抑制作用をもつことが示された⁸⁻¹⁰⁾。

関節リウマチの動物モデルであるコラーゲン関節炎 (CIA) では 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ということが報告されている。NKT 細胞は肝単核球あるいは末梢血中の NKT 細胞は CIA のピーク時には増加する。CD1 あるいは NKT 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 NKT 細胞は病態悪化に関

表 1 自己免疫疾患モデルとNKT細胞

NODマウスにおける糖尿病
NKT細胞の数の減少
DN-NKT細胞移入による糖尿病抑制
V α 14J α 18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 \times NZW)F1, C3H <i>gld/gld</i> における NKT細胞の数の減少
(NZB \times NZW)F1 における抗 CD1抗体による病態改善
関節炎モデル
V α 14J α 18ノックアウトマウスにおけるコラーゲン関節炎抑制
抗 CD1抗体によるコラーゲン関節炎抑制
V α 14J α 18ノックアウトマウス, CD1ノックアウトマウスにおける抗体誘導性関節炎抑制におけるコラーゲン関節炎抑制
OCHによるコラーゲン関節炎抑制
炎症性腸炎
α -GCによる病態抑制
OCHによる病態抑制

与しているようである^{11,12)}。

炎症期の解析に有用な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、NKT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している可能性があることが示唆される¹¹⁾。糖脂質の効果としては α -GC投与でCIAはほとんど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。また、自己免疫疾患患者でみられるようなNKT細胞の少ないSJLマウスにおける関節炎も抑制し、関節炎発症後の投与でも関節炎は軽快した¹²⁾。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抗体あるいは抗IL-10抗体の同時投与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。

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NKT細胞数がBALB/c、C3H、C57BL6など他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NKT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/W 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、NKT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NKT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NKT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NKT細胞は病態へ関与しており(表1)、治療の標的となりうる重要な細胞である。とくにTh1優位の臓器特異的自己

免疫疾患では糖脂質療法が期待できる。

アレルギーとの関連

ヒトのアレルギー疾患では、アトピー性皮膚炎の患者においてNKT細胞が減少していることが報告されている。マウスのモデル系を用いた実験では気管支喘息モデルにおけるNKT細胞の役割が注目されている。気管支喘息モデルはIL-4, IL-5, IL-13などのTh2サイトカインが病態に重要なアレルギー性疾患である。NKT細胞はいずれのサイトカインも産生することから、気管支喘息モデルにおけるNKT細胞の役割がNKT細胞のないJ α 18ノックアウトマウスとCD1ノックアウトマウスを用いて調べられた¹³⁾。いずれのマウスにおいても気道過敏性と好酸球浸潤は軽度であった。また、IL-4, IL-13ノックアウトマウスを用いた実験から、NKT細胞から産生されるIL-4, IL-13が気道過敏性誘発に重要であることも示された。NKT細胞の喘息抑制については、その機序はまだ不明な点もあり、今後詳細な解析が待たれる。また、ステロイド吸入治療抵抗性の患者の気道にはNKT細胞の集積がみられるという報告もあり、ヒトでの気管支喘息におけるNKT細胞の関与についても解析が進むことが期待される。

動脈硬化との関連

マウスに動脈硬化食を与えると、NKT細胞は減少し、CD1ノックアウトマウスでは野生型のマウスに比較して動脈硬化病変が小さいことが報告された¹⁴⁾。アポEノックアウトマウスでは高脂血症と動脈硬化病変の自然発症がみられるが、CD1ノックアウトマウスを掛け合わせるとこの動脈硬化病変が軽減するということが報告されている¹⁵⁾。アポEノックアウトマウスに α -GCを投与すると動脈硬化病変は拡大するが、いったん形成

された動脈硬化病変については病変拡大はみられないものの、浸潤細胞の増加と病変部位へのコラーゲンの沈着の減少がみられた。これらの結果から、NKT細胞は動脈硬化病変形成期にはその病変の大きさに影響し、病変形成後には病巣の質に影響を与える可能性があることが示唆されている。

おわりに

NKT細胞は抗原受容体の半可変性、クローン性の増殖を必要とせず組織に多数存在し、すぐに反応を開始できることなどは自然免疫系と獲得免疫系の中間的存在で、さまざまな免疫の初期応答や自己免疫などの調節に重要である。また、さまざまな機能を選択的に引き出す糖脂質の合成が世界各国で行われており、今後臨床応用可能な薬剤となることを期待したい。

文献

- 1) Brigl, M. and Brenner, M. B. : *Ann. Rev. Immunol.*, 22 : 817-890, 2004.
- 2) Kawano, T. et al. : *Science*, 278 : 1626-1629, 1997.
- 3) Zhou, D. et al. : *Science*, 306 : 1786-1789, 2004.
- 4) Miyamoto, K. et al. : *Nature*, 413 : 531-534, 2001.
- 5) Gonzalez-Aseguinolaza, G. et al. : *J. Exp. Med.*, 195 : 617-624, 2002.
- 6) Kojo, S. et al. : *Arthritis Rheum.*, 44 : 1127-1138, 2001.
- 7) Araki, M. et al. : *Int. Immunol.*, 15 : 279-288, 2003.
- 8) Hammond, K. J. L. and Godfrey, D. I. : *Tissue Antigens*, 59 : 353-363, 2002.
- 9) Miyake, S. et al. : *Mod. Rheum.*, 14 : 279-284, 2004.
- 10) Mizuno, M. et al. : *J. Autoimmunol.*, 23 : 293-300, 2004.
- 11) Chiba, A. et al. : *Arthritis Rheum.* (in press)
- 12) Chiba, A. et al. : *Arthritis Rheum.*, 50 : 305-313, 2004.
- 13) Akbari, O. et al. : *Nat. Med.*, 9 : 582-588, 2003.
- 14) Nakai, Y. et al. : *Blood*, 104 : 2051-2059, 2004.
- 15) Tupin, E. et al. : *J. Exp. Med.*, 199 : 417-422, 2004.

* * *

OCHとCD1D

ヒト CD1 遺伝子群は、第1染色体上に CD1A から CD1E までの5つの遺伝子が位置する¹⁾。CD1分子は、 $\beta 2$ ミクログロブリン($\beta 2$ microglobulin: $\beta 2m$)と非共有結合し、ヘテロ二量体として細胞表面に発現し、脂質抗原提示分子としてはたらく。CD1分子の細胞外領域は、主要組織適合抗原複合体(major histocompatibility complex: MHC)クラス I 分子に類似したドメイン構造($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ ドメイン)をもち、 $\beta 2m$ との結合に重要な $\alpha 3$ ドメインは相同性が高い。CD1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。CD1ファミリーには、ヒトではグループ1-CD1(CD1a, b, c)とグループ2-CD1(CD1d)が存在するが、マウスやラットではCD1d分子のみが存在する。グループ1CD1は、未熟胸腺細胞に発現する蛋白として同定されたが、胸腺外ではおもに樹状細胞に発現する。グループ1CD1分子は、細菌由来の脂質や、自己由来の脂質を提示し、可変性に富むT細胞レセプター(T cell receptor: TCR)をもつT細胞を活性化する。一方、グループ2CD1分子に属するCD1dは血球系細胞に広く分布する。CD1dに抗原提示を受ける細胞の多くは、かぎられたTCR(マウスでは $V\alpha 14$, ヒトでは $V\alpha 24$)を発現する。CD1d分子の結晶構造解析では、MHCクラス I 分子に類似するが(図1A)、抗原結合溝は疎水性が強く、基本的に2つのポケット(A'F')からなる(図1B)。CD1d分子は、 $\beta 2m$ 欠損マウスでは発現しないが、transporter associated with antigen processing(TAP)欠損マウスでは発現し、このマウスではCD1d拘束性の $V\alpha 14$ T細胞も正常に分化する。さらに抗原結合溝が疎水性であること、他のCD1ファミリー分子が細菌の細胞壁の構成脂質を抗原提示することなどから、CD1d分子も糖脂質を提示するのではないかと考えられた。直接的な証明としては、Kawanoら²⁾が海綿の成分である α -ガラクトシルセラミド(α -galactosylceramide: α -GC)が $V\alpha 14$ T細胞の抗原となることを発見したことである(図1C)。一方、 α -GCは哺乳類の体内に存在することは証明されておらず、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、生体内では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、ガングリオシドGD3, glycosylphosphatidylinositol(GPI), phosphoethanolamine(PE), サリファタイドなどが報告されたが、最近イソグロポシドが有力な抗原として示された³⁾。また、外来抗原としては、*Leishmania* 由来の glycoinositol phospholipids (GIPLs)や lipophosphoglycan(LPG), *Sphingomonas* 由来の glycosphingolipid(GSL)などが報告されている。CD1dに拘束される $V\alpha 14$ T細胞は、機能的な特徴として、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。このことから、感染症, 癌免疫, 自己免疫, アレルギー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。 α -GCは抗癌剤として臨床試験がすすめられてい

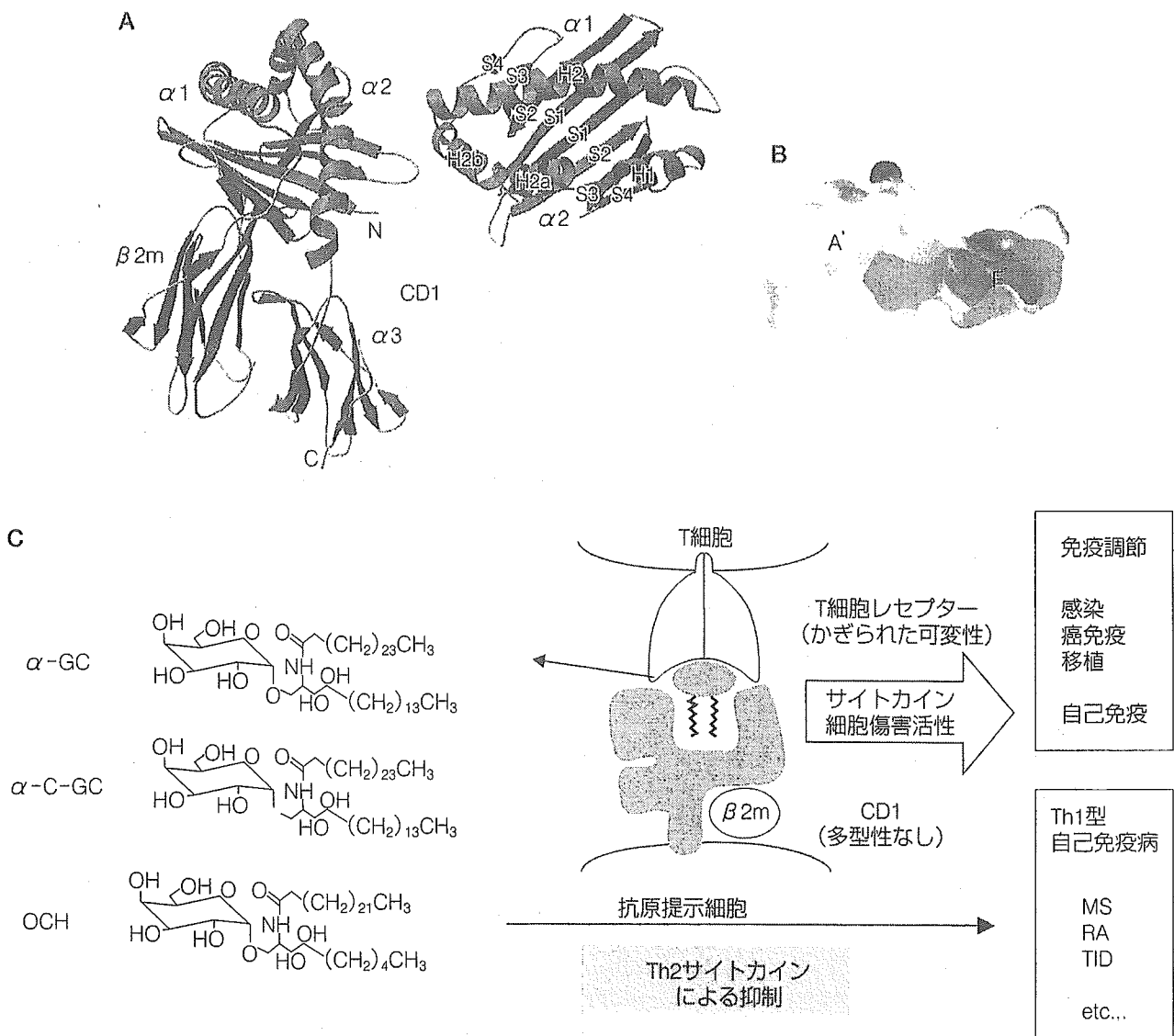


図 1. NKT 細胞による免疫調節

NKT 細胞は、多型性のない CD1d 分子に提示された糖脂質を抗原として認識する。多種類のサイトカインの迅速な産生能のために、多くの免疫調節に関与している。生体内では、内在性の自己抗原を認識していると考えられているが、実験的には α -GC が汎用されている。NKT 細胞の特定の機能を引き出す合成糖脂質の探索が盛んにおこなわれており、OCH や α -C-GC などが知られている。OCH は、Th2 サイトカイン産生を選択的に誘導し、Th1 優位な自己免疫を抑制する。

るが、V α 14 T 細胞を刺激して特定の機能を選択的に引き出す合成糖脂質の探索もすすめられている。その例としては、Th2 サイトカインの産生を選択的に誘導する OCH や、IL-12 産生を強く誘導し、IFN- γ 依存性の作用を強くひきだす α -C-GC などが報告されている¹⁾⁵⁾(図 1)。

OCH は、NKT 細胞を刺激して Th2 サイトカインを選択的に産生させる合成糖脂質である。その性質から、多発性硬化症モデルである実験的自己免疫性脳炎⁴⁾、関節リウマチモデルであ

るコラーゲン関節炎⁶⁾、I型糖尿病モデルであるNODマウスにおける糖尿病⁷⁾、炎症性腸炎モデルであるデキストラン誘導性腸炎⁸⁾など、Th1細胞が病態悪化を引き起こす臓器特異的自己免疫疾患モデルを抑制することが報告されている。これらのモデルでは、自己抗原反応性T細胞の免疫応答をTh2に偏倚させることによって、病態を抑制すると考えられる。OCHが、Th2サイトカインを選択的に産生させる機序としては、 α -GCに比較してCD1dとの結合安定性が弱いために、TCRから入る刺激時間が短く、そのためにIFN- γ 産生に必要なc-Relなどの誘導が十分に起こらないことが一因となる⁹⁾。また、OCHによる刺激では、V α 14T細胞上のCD40Lの発現誘導が弱い。上記の機序によりV α 14T細胞からのIFN- γ 産生が少ないことに加え、OCH刺激ではCD40/CD40Lを介した刺激が弱く、樹状細胞などの抗原提示細胞からのIL-12の産生、それに引きつづくNK細胞からのIFN- γ 産生が少なくなる。IL-4などのTh2サイトカインの産生はよく保たれているために、全体としてTh2サイトカインが選択的に誘導されることになる。一方、 α -C-GCは抗原提示細胞からのIL-12産生を増強することによって、NK細胞からのIFN- γ 産生を強く引き起こすと考えられている。OCHは、経口投与での自己免疫モデルの病態抑制効果が報告されており、臨床応用される可能性もある。また、今後も新たな特徴をもつ合成糖脂質が報告されることも期待されている。

文 献

- 1) Brigl M *et al* : CD1 : antigen presentation and T cell function. *Annu Rev Immunol* **22** : 817-890, 2004
- 2) Kawano T *et al* : CD1d-restricted and TCR-mediated activation of V α 14 NKT cells by glycosylceramides. *Science* **278** : 1626-1629, 1997
- 3) Zhou D *et al* : Lysosomal glycosphingolipid recognition by NKT cells. *Science* **306** : 1786-1789, 2004
- 4) Miyamoto K *et al* : A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing Th2 bias of natural killer T cells. *Nature* **413** : 531-534, 2001
- 5) Gozalez-Aseguinolaza G *et al* : Natural killer T cell ligand alpha-galactosylceramide enhances protective immunity induced by malaria vaccines. *J Exp Med* **195** : 617-624, 2002
- 6) Chiba A *et al* : Suppression of collagen-induced arthritis by natural killer T cell activation with OCH, a sphingosine-truncated analog of alpha-galactosylceramide. *Arthritis Rheum* **50** : 305-313, 2004
- 7) Mizuno M *et al* : Synthetic glycolipid OCH prevents insulinitis and diabetes in NOD mice. *J Autoimmun* **23** : 293-300, 2004
- 8) Ueno Y *et al* : Single dose of OCH improves mucosal T helper type 1/T helper type 2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of valpha 14 natural killer T cells in mice. *Inflamm Bowel Dis* **11** : 35-41, 2005
- 9) Oki S *et al* : The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells. *J Clin Invest* **113** : 1631-1640, 2004

(国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部/三宅幸子)

● 自己免疫疾患の概念と知見

多発性硬化症

* 国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部

三宅幸子*

要旨

多発性硬化症は、中枢神経の髄鞘タンパク質を標的とする自己免疫性脱髄性疾患である。再発と寛解を繰り返し、進行期には神経変性にいたるため、早期の自己免疫抑制が重要である。自己免疫病態形成には、Th1 サイトカインを産生する CD4⁺ T細胞が重要であるが、その抑制にはさまざまな免疫調節性細胞が関与している。現在再発予防に I 型 IFN など限られた薬剤しかなく、副作用や無効例もあることから、新しい薬剤の開発導入が望まれる。

多発性硬化症 (MS) は、中枢神経の髄鞘タンパク質を標的とする自己免疫性の脱髄疾患と考えられている¹⁾²⁾。MS は欧米では多い疾患であり、若年者に発症するため社会的、経済的に大きな問題であり、新薬開発も盛んに行われている。本稿では、MS の病態機構についての基礎的な知見と、治療戦略について概説する。

MS は、日本では人口 10 万人に 5～10 人程度と推定されているが、世界全体では欧米の白人を中心に 300 万人以上の患者がいると

キーワード：多発性硬化症，実験的自己免疫性脳脊髄炎，脳炎惹起性 T 細胞，Th1 / Th2，免疫調節細胞