

- 関する調査研究班. 平成 16 年度班会議. 東京、2005. 1.26.
20. 佐藤準一 : The 14-3-3 zeta isoform binds to heat shock protein HSP60 in human neural cells: a possible implication in prion diseases. 科学研究費補助金特定領域研究・感染の成立と宿主応答の分子基盤. 平成 16 年度 2 回全体班会議. 東京、2005. 1. 8 (抄録集 p.156-157).
 21. 佐藤準一、山村隆、尾上祐行、有馬邦正 : 多発性硬化症脱髄巢反応性アストロサイトにおける Nogo 受容体の発現. 厚生労働省特定疾患対策研究事業 免疫性神経疾患に関する調査研究班. 平成 16 年度班会議. 東京、2005. 1.26 (抄録集 p.20-21).
 22. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆 : T 細胞の DNA microarray 解析による多発性硬化症の病型分類. 第 17 回日本神経免疫学会学術集会. 福岡、2005. 3.3. (神経免疫学 13: 44, 2005). 第 17 回日本神経免疫学会会長賞受賞.
 23. 尾上祐行、佐藤準一、山村隆 : 多発性硬化症患者血清中の抗 Nogo Receptor 抗体の検出. 第 17 回日本神経免疫学会学術集会. 福岡、2005. 3.3. (神経免疫学 13: 72, 2005). 第 17 回日本神経免疫学会奨励賞受賞.
 24. 土居芳充、佐藤準一、山村隆 : 多発性硬化症の末梢血 T 細胞における NR4A2 発現上昇. 第 17 回日本神経免疫学会学術集会. 福岡、2005. 3.4. (神経免疫学 13: 104, 2005).
 25. 佐藤準一、尾上祐行、有馬邦正、山村隆 : 多発性硬化症脱髄巢における Nogo-A・Nogo 受容体の発現. 第 46 回日本神経病理学会総会学術研究会. 宇都宮、2005. 5.13. (Neuropathology 25: A32, 2005).
 26. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、土居芳充、古池史子、山村隆 : DNA microarray 解析による多発性硬化症の病型分類. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.25. (抄録集 102, 2005).
 27. 土居芳充、佐藤準一、山村隆 : 多発性硬化症(MS)末梢血 T 細胞における NR4A2 発現上昇. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.27. (抄録集 272, 2005).
 28. 尾上祐行、佐藤準一、山村隆 : 多発性硬化症(MS)患者血清中の抗 Nogo 抗体の検出. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.27. (抄録集 272, 2005).
 29. 山村隆、佐藤準一 : cDNA マイクロアレイを用いた多発性硬化症の病態解析. 第 26 回日本炎症・再生医学会. ワークショップ 3. 網羅的遺伝子発現解析による炎症性疾患の病態解析と治療効果の予測. 東京、2005. 7.13. (炎症・再生 25: 289, 2005).
 30. 佐藤準一、野村恭一、山村隆 : CIDP 診断における DNA マイクロアレイ有用性に関する研究. 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 難治性ニューロパチーの病態に基づく新規治療法の開発班. 平成 17 年度班会議. 東京、2005. 12.7.
 31. 佐藤準一、南里悠介、土居芳充、山村隆 : 末梢血リンパ球におけるインターフェロン応答遺伝子の網羅的解析. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患の画期的診断・治療法に関する研究事業. 平成 17 年度班会議. 東京、2005.12.9.
 32. 南里悠介、佐藤準一、土居芳充、山村隆 : MS のマイクロアレイ診断およびインターフェ

ロンペータ治療に関するアンケート調査の集計. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患の画期的診断・治療法に関する研究事業. 平成 17 年度班会議. 東京、2005.12.9.

33. Satoh J, Onoue H, Doi Y, Yamamura T : Detection of anti-Nogo-66 and anti-Nogo receptor autoantibodies in the serum of multiple sclerosis. 第 35 回日本免疫学会総会学術集会 横浜、2005. 12.13. (Proceedings of the Japanese Society for Immunology 35: 37, 2005).

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

1) 多発性硬化症に対するインターフェロン・ペータ薬物治療の有効性予測法(特開 2004-28926).

2) 多発性硬化症に関連する遺伝子の発現測定方法、多発性硬化症関連遺伝子の発現を測定するためのチップ、多発性硬化症の罹患を判断するための遺伝子群、多発性硬化症の評価方法.

(特開 2005-160440).

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	ページ	出版年
Akiyama H, Uchikado H	Brain inflammation and psychogeriatric diseases	I. Hanim, R. Cacabelos & A. Fisher	Progress in Alzheimer's and Parkinson's	Taylor & Francis	London	139-144	2005
山村 隆 三宅幸子	実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) に対するNKT細胞機能制御治療とその応用	岸本忠三	Molecular Medicine 臨時増刊号 「免疫2004」	中山書店	東京	305-311	2003
三宅幸子	自己免疫性脳脊髄疾患の糖脂質療法	柳澤信夫 篠原幸人 岩田誠 清水輝夫 寺本明	Annual Review 神経2004	中外医学社	東京	237-244	2004
佐藤準一 山村 隆	サイトカインの生理活性-神経系. Overview.	宮坂信之 宮島 篤	別冊・医学のあゆみ. サイトカイン	医歯薬出版	東京	119-122	2004
宮本勝一 山村 隆	サイトカインの病態への関与. 多発性硬化症.	宮坂信之 宮島 篤	別冊・医学のあゆみ. サイトカイン	医歯薬出版	東京	245-247	2004

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamura T, Sonoda K-H, Faunce DE, Gumperz J, Yamamura T, Miyake S, Stein-Streilein J.	CD4+ NKT cells, but not conventional CD43+ T cells, are required to generate efferent CD8+ T regulatory cells following antigen inoculation in an immune-privileged site.	The Journal of Immunology	171 (3)	1266- 1271	2003
Bedoui S, Miyake S, Lin Y, Miyamoto K, Oki S, Kawamura N, Beck-Sickinger A, von Horsten S, Yamamura T.	Neuropeptide Y (NPY) suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis: NPY ₁ receptor-specific inhibition of autoreactive Th1 responses in vivo.	The Journal of Immunology	171	3451- 3458	2003
Stanic AK, Shashidharamurthy R, Bezbradica JS, Matsuki N, Yoshimura Y, Miyake S, Choi EY, Schell TD, Van Kaer L, Tevethia SS, Roopenian DC, Yamamura T, Joyce S.	Another view of T cell antigen recognition: cooperative engagement of glycolipid antigens by V α 14J α 18 natural TCR	The Journal of Immunology	171 (9)	4539- 4551	2003
Satoh J, Yukitake M, Kurohara K, Takashima H, Kuroda Y.	Detection of the 14-3-3 protein in the cerebrospinal fluid of Japanese multiple sclerosis patients presenting with severe myelitis.	Journal of the Neurological Sciences	212	11-20	2003
Shimamura M, Huang Y-Y, Goji H	Antibody production in early life supported by maternal lymphocyte factors.	Biochim. Biophys. Acta, Molecular Basis of Disease	1637	55-58	2003

<u>Kanda T</u> , Yamawaki M, Mizusawa H.	Sera from Guillain-Barre patients enhance leakage in blood-nerve barrier model	Neurology	60	301-306	2003
Chiba A, Oki S, Miyamoto K, Hashimoto H, Yamamura T, <u>Miyake S</u> .	Suppression of collagen-induced arthritis by Natural killer T cell activation with OCH, a sphingosine-truncated analog of alpha-galactosylceramide.	Arthritis & Rheumatism	50 (1)	305-313	2004
Illes,Z, <u>Shimamura M</u> , Newcombe J, Oka N, <u>Yamamura T</u> .	Accumulation of V α 7.2-J α 33 invariant T cells in human autoimmune inflammatory lesions in the nervous system.	International Immunology	16 (2)	223-230	2003
Oki S, Chiba A, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> .	The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells.	The Journal of Clinical Investigation	113 (11)	1631-1640	2004
<u>Satoh J-i</u> , <u>Yamamura T</u> , Arima K	The 14-3-3 protein ϵ isoform expressed in reactive astrocytes in demyelinating lesions of multiple sclerosis binds to vimentin and glial fibrillary acidic protein in cultured human astrocytes.	American Journal of Pathology	165 (2)	577-592	2004
Takahashi K, Aranami T, Endoh M, <u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> .	The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis.	Brain	127	1917-1927	2004
Mizuno M, Masumura M, Tomi C, Chiba A, Oki S, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> .	Synthetic glycolipid OCH prevents insulinitis and diabetes in NOD mice.	Journal of Autoimmunity.	23	293-300	2004
<u>Satoh J-i</u> , <u>Yamamura T</u> .	Gene expression profile following stable expression of the cellular prion protein.	Cellular and Molecular Neurobiology	24	793-814	2004
<u>Shimamura M</u> . KobayashiK, Watanabe H, Huang Y-Y, Okamoto N, Kanie O, Goji H, Kobayashi M.	Generation of V α 14 NKT cells in vitro from hematopoietic precursors residing in bone marrow and peripheral blood.	European Journal of Immunology	34	735-742	2004
<u>Kanda T</u> , Numata Y, Mizusawa H.	Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: decreased claudin-5 and relocated ZO-1.	Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry	75	765-769	2004
<u>Kanda T</u> , Ariga T, Kubodera H, Jin H.L, Owada K, Kasama T, Yamawaki M, Mizusawa H.	Glycosphingolipid composition of primary cultured human brain microvascular endothelial cells.	Journal of Neuroscience Research	78	141-150	2004
Hashimoto D, Asakura S, <u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> , van Kaer L, Liu C, Tanimoto M, Teshima T.	Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells.	The Journal of Immunology	174	551-556	2005
Yu KOA, Im JS, Molano A, Dutronc Y, Illarionov PA, Forestier C, Fujiwara N, Arias I, <u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> , Chang YT, Besra GS, Porcelli SA.	Modulation of CD1d-restricted NKT cell responses by using N-acyl variants of α -galactosylceramides.	Proceedings of the National Academy of Sciences USA.	102 (9)	3383-3388	2005

Ueno Y, Tanaka S, Sumii M, <u>Miyake S</u> , Tazuma S, Taniguchi M, <u>Yamamura T</u> , Chayama K.	Single dose of OCH improves mucosal Th1/Th2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of V α 14 NKT cells in mice	Inflammatory Bowel Disease	11 (1)	35-41	2005
Murata K, Toba T, Nakanishi K, Takahashi B, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> , Annoura H.	Total synthesis of an immunosuppressive glycolipid, (2S, 3S,4R)-1-O-(alpha-d-galactosyl)-2-tetracosanoylamino-1,3,4-nonanetriol.	Journal of Organic Chemistry	70 (6)	2398-2401	2005
Ota T, Takeda K, Akiba H, Hayakawa Y, Ogasawara K, Ikarashi Y, <u>Miyake S</u> , Wakasugi H, <u>Yamamura T</u> , Kronenberg M, Raulet DH, Kinoshita K, Yagita H, Smyth MJ, Okumura K.	IFN- γ -mediated negative feedback regulation of NKT-cell function by CD94/NKG2.	Blood	106 (1)	184-192	2005
Chiba A, Kaieda S, Oki S, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> .	The involvement of V α 14 NKT cells in the pathogenesis of arthritis in murine models.	Arthritis & Rheumatism	52 (6)	1941-1948	2005
Toba T, Murata K, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> , Annoura H.	A concise synthesis of (3S,4S,5R)-1-(α -D-galactopyranosyl)-3-tetracosanoylamino-4,5-decanediol, a C-glycoside analogue of immunomodulating α -galactosylceramide OCH.	Tetrahedron Letters	46	5043-5047	2005
Ronet C, Darche S, de Moraes ML, <u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> , Louis JA, Kasper LH, Buzoni-Gatel D.	NKT Cells Are Critical for the Initiation of an Inflammatory Bowel Response against Toxoplasma gondii.	The Journal of Immunology	175	899-908	2005
Oki S, Tomi C, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> .	Preferential Th2 polarization by OCH is supported by incompetent NKT cell induction of CD40L and following production of inflammatory cytokines by bystander cells in vivo.	International Immunology	17 (12)	1619-1629	2005
Okamoto N, Kanie O, Huang Y.Y, Fujii, R, Watanabe H. <u>Shimamura M</u> .	Synthetic α -mannosyl ceramide as a potent stimulant for an NKT cell repertoire bearing the invariant V α 19-J α 26 TCR α chain.	Chemistry & Biology	12	677-683	2005
<u>Satoh J</u> , Onoue H, Arima K, <u>Yamamura T</u> .	Nogo-A and Nogo receptor expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis.	Journal of Neuropathology and Experimental Neurology	64 (2)	129-138	2005
<u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> .	Therapeutic potential of glycolipid ligands for natural killer (NK) T cells in the suppression of autoimmune diseases.	Current drug targets. Immune, endocrine and metabolic disorders.	5 (3)	315-322	2005
<u>Shimamura M</u> , Okamoto N, Huang Y-Y, Yasuoka J, Morita K, Nishiyama A, Amano Y, Mishina T.	Induction of promotive rather than suppressive immune responses from a novel NKT cell repertoire V α 1 NKT cell with α -mannosylceramide analogies consisting of the immunosuppressant ISP-I as the sphingosine unit.	European Journal of Medicinal Chemistry		in press	

山村 隆	NKT細胞と自己免疫:調節性CD4 ⁺ NKT細胞の役割	Molecular Medicine	40 (5)	562-568	2003
山村 隆	多発性硬化症の発症機構とNK細胞 /NKT細胞	日本臨床	61	1329- 1334	2003
山村 隆	NKT細胞を介した自己免疫疾患制御	炎症と免疫	11	616-622	2003
佐藤 準一、山村 隆	多発性硬化症治療への新しい展望	最新医学	58	1926- 1938	2003
長山 成美、山村 隆	実験的自己免疫性脳脊髄炎と多発性 硬化症. 特集 Molecular mimicry (分子模倣)と疾患	医学のあゆみ	206	845-848	2003
長山 成美、山村 隆	抗コレステロール薬によるTh2優 位の誘導—MSの治療への応用は可 能か?	臨床免疫	40	205-208	2003
山村 隆	近未来の多発性硬化症治療	BIO Clinica	18	1069- 1073	2003
山村 隆、林 幼偉 三宅 幸子	多発性硬化症の進行を抑制する免 疫細胞. 特集 脳と免疫	Brain Medical	15	401-405	2003
三宅 幸子、千葉 麻子	NKT細胞合成糖脂質リガンドによる 関節炎の治療	臨床免疫	40	61-65	2003
三宅 幸子	神経ペプチドと自己免疫疾患	Brain Medical	15	27-32	2003
三宅 幸子	NKT細胞と自己免疫疾患	内科	93 (2)	213-216	2004
佐藤 準一	脳の炎症とグリア細胞の役割	Brain Medical	15 (4)	15-20	2003
三宅 幸子	ナチュラルキラーT細胞を標的と した多発性硬化症の糖脂質治療	医学のあゆみ	208	449-453	2004
山村 隆	NKT細胞のリガンドとTh1/Th2バラ ンス	臨床免疫	41	14-17	2004
宮本 勝一、山村 隆	多発性硬化症の新しい治療薬の開発	Clinical Neuroscience	22	847-850	2004
神田 隆	血液脳関門の機能	日本医事新報	4164	107-108	2004
三宅 幸子	NKT細胞を標的とした自己免疫疾 患治療法	アレルギー科	18 (6)	546-551	2004
三宅 幸子	NKT細胞と自己免疫疾患	医学のあゆみ	211 (6)	715-720	2004
山村 隆	ニューロペプチドYと免疫制御	アレルギー科	19 (6)	538-542	2005
山村 隆	多発性硬化症とNK細胞	Current Insights in Neurological Science	13 (3)	10-11	2005
山村 隆	ニューロペプチドYと免疫制御	臨床免疫	44 (3)	324-327	2005
山村 隆	糖脂質による新しい治療	臨床神経	45	909-911	2005

三宅幸子	α -ガラクトシルセラミドとその誘導体	分子リウマチ	2 (1)	39-46	2005
三宅幸子	免疫調節細胞と自己免疫疾患	Molecular Medicine	42 (4)	385-391	2005
三宅幸子	自己免疫病態調節と治療標的としてのNKT細胞	医学のあゆみ	213 (1)	59-63	2005
三宅幸子	OCHとCD1D	炎症と免疫	13 (4)	134-6	2005
三宅幸子	多発性硬化症	最新医学	60 (6)	183-92	2005
秋山治彦	アルツハイマー病とミクログリア	神経研究の進歩	49 (3)	347-356	2005

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Chapter 17

Brain inflammation and psychogeriatric diseases

H Akiyama, H Uchikado

BRAIN INFLAMMATION AND NEURONS

The long-held concept of the immune privilege of the brain has been revised significantly in the past 15 years. The blood–brain barrier (BBB) exists, but isolation from the periphery by the BBB is not as complete as it was thought to be and plays a limited role in the immune privilege. Recent evidence suggests that the brain parenchyma has unique mechanisms for regulating immune and inflammatory responses. For example, expression of CD200,¹ intercellular adhesion molecule (ICAM)-5/telencephalin² and transforming growth factor (TGF)- β ³ may contribute to the maintenance of the anti-inflammatory environment of the brain. Despite these mechanisms, low-grade inflammation occurs in association with brain lesions such as Alzheimer's disease,⁴ cerebrovascular diseases and head trauma, with the full complexity of peripheral inflammatory responses. Studies on these non-immunological diseases have revealed that the brain has its own innate immune system and shares a variety of cytokines and other bioactive molecules with the peripheral immune system.

In the brain, microglia and astrocytes are thought to be the major cell populations that are engaged in the inflammatory responses. In a

classic view, neurons are regarded as cells that perform only passive roles in inflammation. Neurons may become bystander victims that fuel the inflammatory processes by providing cell debris, which has to be removed by phagocytic cells and triggers further activation of these cells. However, there is a growing body of evidence that neurons not only respond to a number of inflammatory mediators but also produce many pro- and anti-inflammatory molecules.⁵ These include complement proteins and inflammatory cytokines, as well as cyclooxygenase (COX)-2, prostaglandin E₂ receptors and inducible nitric oxide synthase, iNOS. Figure 17.1 illustrates the expression of COX-2 by hippocampal pyramidal neurons in an Alzheimer's disease patient, complicated with prolonged convulsion at the agonal stage. Interestingly, the literature indicates that some inflammatory molecules are involved in the modulation of neuronal functions such as neurotransmission.^{5–7}

The physiological relevance of inflammatory molecules in neuronal activity leads to the hypothesis that mild or moderate inflammation, which does not visibly destroy brain tissue, can interfere with brain functions. It has been known that very strong systemic inflammation, as in

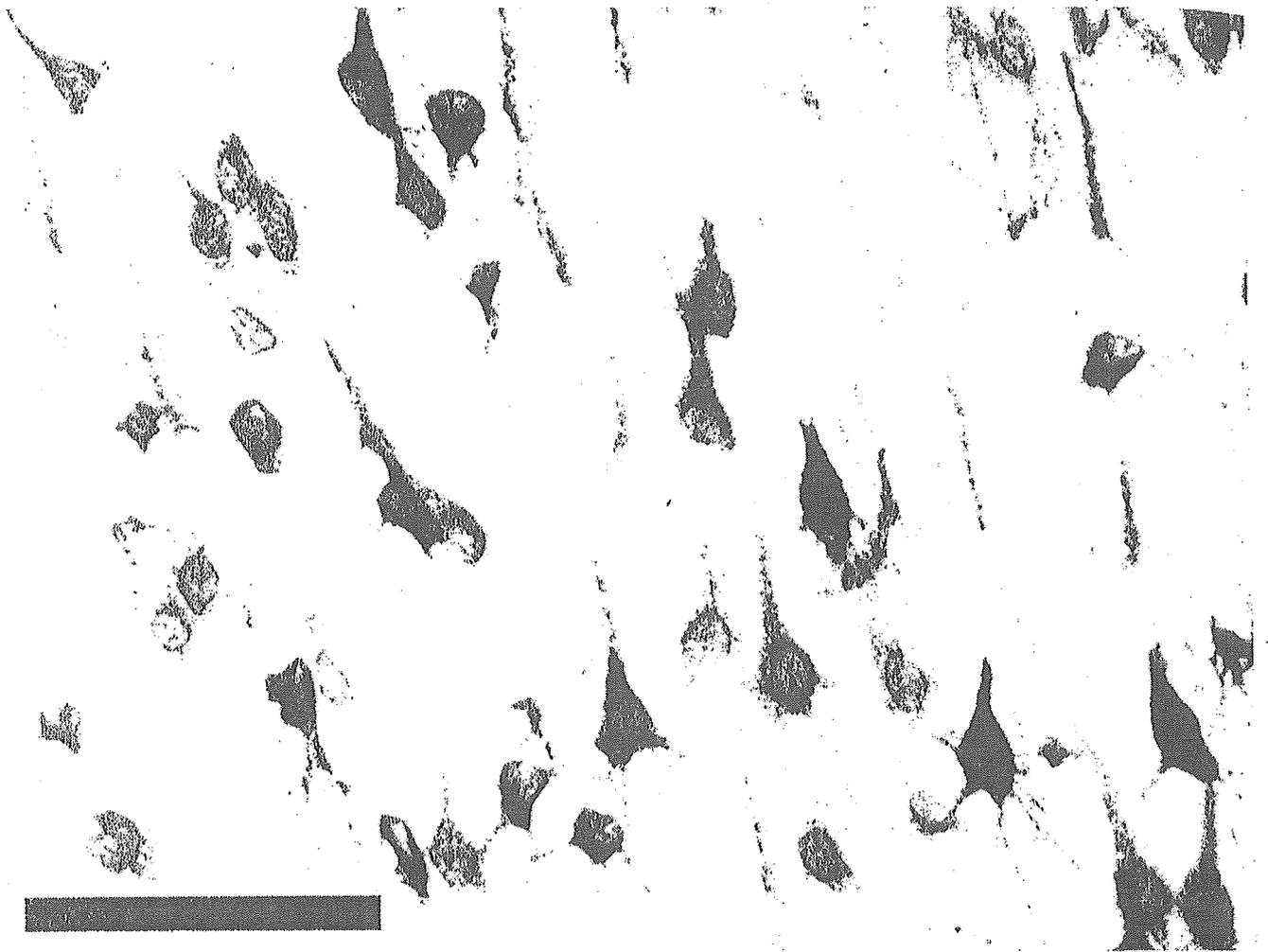


Figure 17.1 Cyclo-oxygenase-2 expression by hippocampal pyramidal neurons. An Alzheimer's disease case complicated with prolonged convulsion at the agonal stage. Scale bar, 100 μ m

sepsis and toxic shock syndrome, are associated with central nervous system symptoms.^{8,9} Clinical manifestations include delirium and other consciousness abnormalities, which are generally considered to be transient disorders. In these conditions, peripheral inflammation appears to disturb neural transmission in the absence of apparent encephalitic pathology. It has to be emphasized that, in elderly patients with such brain lesions as Alzheimer's disease or cerebrovascular diseases, even mild systemic inflammatory diseases frequently cause delirium.^{6,10,11}

ACTIVATION OF VASCULAR CELLS BY SYSTEMIC INFLAMMATION

Vascular endothelial cells and perivascular cells are located at the interface between the peripheral blood and the brain parenchyma. These cells could therefore be involved in the transmission of inflammation from the periphery to the brain. The BBB may be effective in preventing large molecules such as complement and other inflammatory proteins from entering the brain. However, it may easily pass inflammatory signals through activation of these vascular cells.

We investigated activation of vascular endothelial cells and perivascular cells in the cerebral cortex of postmortem brain from patients with or without brain lesions. Many patients suffer from a variable degree of systemic inflammation at the agonal stage. In some cases, we used serum concentrations of an acute-phase reactant, C-reactive protein (CRP), as an index of systemic inflammation. Since the serum concentration of CRP at the agonal stage was available only in a limited number of patients, we estimated the degree of systemic inflammation by the intensity of immunohistochemical staining of the residual blood in brain tissue for CRP. In cases where we were able to obtain from the clinical records the serum CRP concentration on the day of or a day before death, intensity of CRP immunoreactivity in brain tissue showed a good correlation with serum CRP concentration.

Activation of vascular endothelial cells was investigated with three markers: ICAM-1, CD40 and COX-2. ICAM-1 is a cell adhesion molecule that belongs to the immunoglobulin superfamily. In the periphery, ICAM-1 expression plays a principal role in leukocyte adhesion to vascular endothelial cells and subsequent infiltration into tissues at the site of inflammation.¹² In the brain, reactive astrocytes and vascular endothelial cells express ICAM-1.¹³ Figure 17.2a illustrates low expression of ICAM-1 by vascular endothelial cells in a control case without systemic inflammation. In cases without significant brain lesions, ICAM-1 immunoreactivity increased in parallel with the degree of systemic inflammation (Figure 17.2b). In neurological cases such as Alzheimer's disease, the correlation was less clear. A number of cases with brain lesions were high in vascular ICAM-1 expression even in the absence of systemic inflammation (Figure 17.2c).

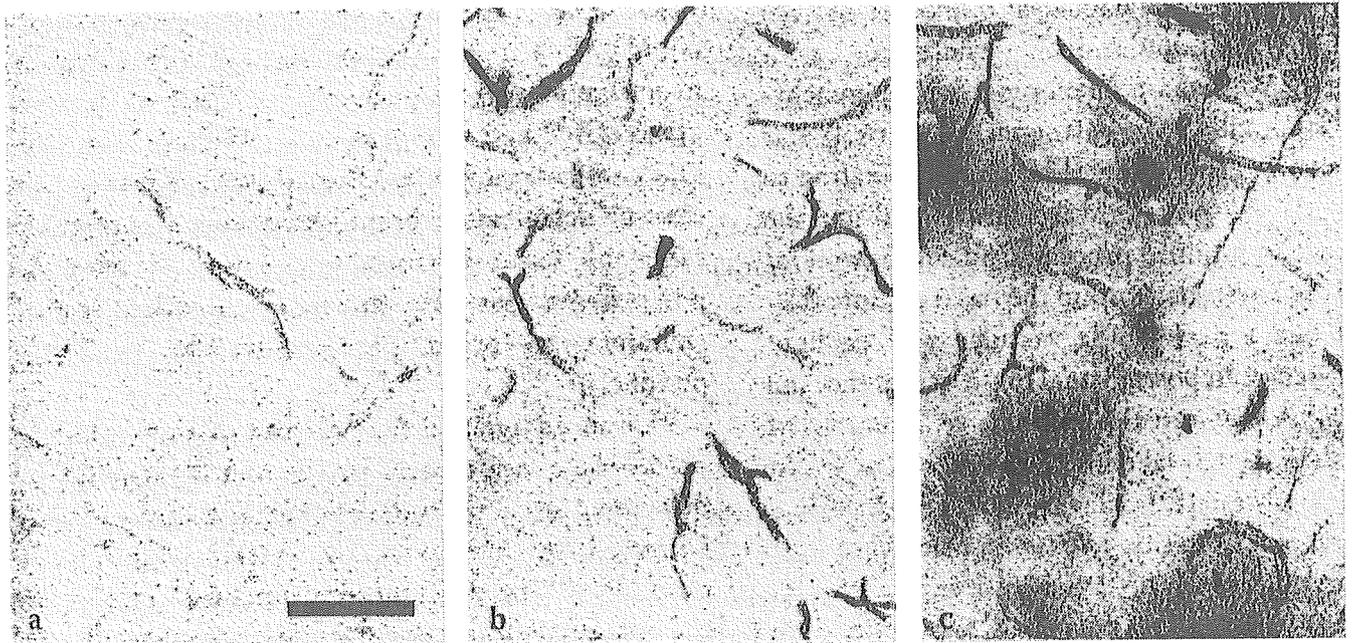


Figure 17.2 Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression by vascular endothelial cells in the temporal cortex. (a) A control case without systemic inflammation. Scale bar, 100 μm . a–c are at the same magnification. (b) A control case with strong systemic inflammation at the agonal stage. (c) A case with Alzheimer's disease without systemic inflammation. Patchy labeling of the brain parenchyma indicates ICAM-1 expression by reactive astrocytes around senile plaques. Note that vascular ICAM-1 expression is comparable with that in (b) even in the absence of systemic inflammation

The other two markers, CD40 and COX-2, showed similar changes. CD40 is a cell-surface molecule that is involved in immune and inflammatory processes and is overexpressed upon inflammation.^{14,15} In the human brain, CD40 is expressed by reactive microglia and vascular endothelial cells.¹⁶ COX is the rate-limiting enzyme in the conversion of arachidonic acid to prostanoids. COX-2 is the inducible isoform of COX and is expressed by neurons and vascular endothelial cells in the brain. The intensity of vascular staining for CD40 and COX-2 generally paralleled the degree of systemic inflammation in cases without brain lesions, although a number of cases with brain lesions showed increased expression of CD40 and COX-2 by vascular endothelial cells in the absence of systemic inflammation.

Activation of perivascular cells was investigated with immunostaining for HLA-DR and CD68. Perivascular cells constitute, with meningeal macrophages, a monocyte-derived phagocytic population.¹⁷ Therefore, perivascular cells share phenotypes with parenchymal microglia. We distinguished perivascular cells from microglia by their close association to collagen IV positive vasculature and by the absence of ramified processes. Since perivascular cells are embedded within the basal lamina, they look like a part of the vascular wall on light microscopy. In postmortem brain tissue, staining for HLA-DR revealed a variable intensity of perivascular cell labeling. The number of HLA-DR-positive perivascular cells in a given visual field varied from case to case. In many cases, the occurrence of HLA-DR-positive perivascular cells appeared to be increased in parallel with the degree of systemic inflammation. In cases with brain lesions, the relationship was less clear. It seemed that expression of HLA-DR by perivascular cells was increased by both systemic inflammation and brain lesions. The occurrence

of CD68-positive perivascular cells showed similar changes; it was increased upon systemic inflammation. A number of neurological cases exhibited high CD68 expression by perivascular cells even in the absence of systemic inflammation.

INFLAMMATION AND DELIRIUM

Our results indicate that systemic inflammation activates vascular endothelial cells and perivascular cells in the brain. Brain parenchymal lesions also activate these vascular cells. In the brains of patients with neurodegenerative diseases, activated microglia and astrocytes are capable of producing a great variety of pro-inflammatory mediators,⁴ which may raise the inflammatory level of the brain parenchyma and activate the vascular cells. It seems that inflammatory stimuli in the peripheral blood and the brain parenchyma adjunctly activate the vascular cells. Activated vascular cells, in turn, could be a potential source of diffusible proinflammatory molecules such as prostaglandin E₂¹⁸ and nitric oxide.¹⁹ Thus, even low-grade inflammation associated with the pre-existing degenerative brain lesions may not only raise the basal inflammatory level of brain parenchyma but also enhance inflammatory signaling to brain parenchyma from the periphery.

Advanced age and the presence of brain disorders are considered to be the major risks for delirium, an acute confusional state that is triggered by a variety of systemic conditions.^{10,11,20} The different extracerebral diseases that cause delirium include infection, trauma and major surgery, many of which are associated with systemic inflammation. We consider that the adjunctive pro-inflammatory effect of peripheral inflammation and parenchymal lesions to brain vasculature are a

part of the mechanism that increases the risk of delirium in patients with brain disorders. While strong systemic inflammation can induce central nervous system symptoms by itself,^{8,9} mild to moderate systemic inflammation may also cause similar symptoms if the patients have pre-existing parenchymal lesions. Our results may

therefore explain the vulnerability of neurological patients to delirium caused by inflammatory systemic conditions. Appropriate anti-inflammatory agents might, therefore, be a potential treatment of delirium in elderly neurological patients.

REFERENCES

1. Wright GJ, Jones M, Puklavec MJ, et al. The unusual distribution of the neuronal/lymphoid cell surface CD200 (OX2) glycoprotein is conserved in humans. *Immunology* 2001; 102: 173–9
2. Lindsberg PJ, Launes J, Tian M, et al. Release of soluble ICAM-5, a neuronal adhesion molecule, in acute encephalitis. *Neurology* 2002; 58: 446–51
3. Milner R, Campbell IL. The extracellular matrix and cytokines regulate microglial integrin expression and activation. *J Immunol* 2003; 170: 3850–8
4. Neuroinflammation Working Group: Akiyama H, Barger S, Barnum S, et al. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; 21: 383–421
5. Akiyama H, Neurons. In: Rogers J, ed. *Neuroinflammatory Mechanisms in Alzheimer's Disease*. Basel: Birkhauser, 2001: 225–36
6. Eikelenboom P, Hoogendijk WJG, Jonker C, van Tilburg W. Immunological mechanisms and the spectrum of psychiatric syndrome in Alzheimer's disease. *J Psychogeriatr Res* 2002; 36: 269–80
7. Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J, et al. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2317–21
8. Rosene KA, Copass MK, Kastner LS, et al. Persistent neuropsychological sequelae of toxic shock syndrome. *Ann Intern Med* 1982; 96: 865–70
9. Young GB, Bolton CF, Austin TW, et al. The encephalopathy associated with septic illness. *Clin Invest Med* 1990; 13: 297–304
10. Eikelenboom P, Hoogendijk WJG. Do delirium and Alzheimer's dementia share specific pathogenetic mechanisms? *Dementia Geriatr Cogn Disord* 1999; 10: 319–24
11. Elie M, Cole MG, Primeau FJ, Bellavance F. Delirium risk factors in elderly hospitalized patients. *J Gen Intern Med* 1998; 13: 204–12
12. Carlos TM, Harlan JM. Membrane proteins involved in phagocyte adherence to endothelium. *Immunol Rev* 1990; 114: 5–28
13. Akiyama H, Kawamata T, Yamada T, et al. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 by a subset of astrocytes in Alzheimer and some other degenerative neurological disorders. *Acta Neuropathol* 1993; 85: 628–34
14. Alderson MR, Armitage RJ, Tough TW, et al. CD40 expression by human monocytes: regulation by cytokines and activation of monocytes by the ligand for CD40. *J Exp Med* 1993; 178: 669–74
15. Karmann K, Hughes CCW, Schechner J, et al. CD40 on human endothelial cells: inducibility by cytokines and functional regulation of

Recent Progress in Alzheimer's and Parkinson's Diseases

- adhesion molecule expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4342-6
16. Togo T, Akiyama H, Kondo H, et al. Expression of CD40 in the brain of Alzheimer's disease and other neurological diseases. *Brain Res* 2000; 885: 117-21
 17. Gehrman J, Matsumoto Y, Kreutzberg GW. Microglia: intrinsic immune effector cell of the brain. *Brain Res Rev* 1995; 20: 269-87
 18. Ek M, Engblom D, Saha S, et al. Pathway across the blood-brain barrier. *Nature* 2001; 410: 430-1
 19. Wong Ma-Li, Rettori V, AlShekhlee A, et al. Inducible nitric oxide synthase gene expression in the brain during systemic inflammation. *Nature Med* 1996; 2: 581-4
 20. Lerner AJ, Hedera P, Koss E, Stuckey J, Friedland RP. Delirium in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1997; 11: 16-20

実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) に対する NKT 細胞機能制御治療とその応用

山村 隆・三宅幸子

国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部

CD1d 分子に結合した糖脂質を認識する NKT 細胞は、主に炎症を促進する CD4⁻細胞と免疫調節能をもつ CD4⁺細胞から構成され、状況に応じて Th1 と Th2 サイトカインの一方または両方を産生する。筆者らは NKT 細胞を刺激する糖脂質リガンドの変換体のなかから、NKT 細胞の免疫調節能 (Th2 サイトカイン産生) のみを引き出すようなアナログの同定に成功した。この糖脂質 OCH は、自己反応性 Th1 細胞の介在する急性炎症 (EAE) や慢性炎症 (コラーゲン誘導関節炎) に対して優れた抑制効果を発揮する。NKT 細胞を標的とする免疫制御療法は、免疫疾患の治療戦略として今後大いに期待できる。

Keywords | NKT cell, EAE, multiple sclerosis, OCH, glycolipid

はじめに

胸腺内 negative selection は不完全であり、健常者の末梢血においてすら自己反応性 T 細胞の存在が検出できることは、今日では常識になっている。自己反応性 T 細胞に対する末梢性免疫寛容が外来因子などによって破綻すると、標的臓器が障害され臓器特異的自己免疫疾患が発症する。臓器特異的自己免疫疾患には、多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS), 1 型糖尿病などがあるが、これらの疾患の病態を再現する動物モデルが利用できる。治療法の開発に向けた研究が世界中でさかんに進められている。なかでも実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalo-

myelitis ; EAE) は、自己反応性 Th1 T 細胞の介在する MS の動物モデルで、自己免疫研究では基本的な実験系となっている。EAE に感受性のあるマウスを脳炎惹起性ペプチドで感作すると、通常 10 日～2 週間で失禁、後肢麻痺などの明白な神経症状が現れる。このような EAE の神経症状は中枢神経内の炎症病変によるものであり、ピークを過ぎると自然に回復傾向を示す。理論的には自己反応性 Th1 細胞に Th2 偏倚を誘導すれば、臓器特異的自己免疫疾患の抑制が可能である。実際、Th2 偏倚を誘導する変換ペプチド・リガンド (altered peptide ligand ; APL) の治療効果が EAE で証明され¹⁾、その後すぐさま欧米で臨床試験が展開されたことは記憶に新しい^{2,3)}。APL は自己反応性 T

Application of synthetic glycolipids for treatment of autoimmune diseases : Lessons from study on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)

Takashi Yamamura & Sachiko Miyake

Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP

細胞のT細胞抗原受容体 (TCR) を介して直接的にTh2 偏倚を誘導する方法であるが、自己免疫疾患の発症を抑制するTh2 偏倚誘導法がそのほかにも種々考案され、臨床応用の可能性が検討されている。本稿では、NKT (natural killer T) 細胞に関する最近の知見をレビューしたあと、筆者らが開発したNKT細胞に選択的なIL-4産生を誘導する糖脂質OCHのもつ免疫調節作用を紹介し^{4,5)}、動物実験の成績や臨床応用の可能性などについて論議する。

NKT細胞の性状

1. NKT細胞は二面性をもつ

NKT細胞の定義は必ずしも一定していない。しかし、最近では α -ガラクトシルセラミド (α -GalCer) などの糖脂質をCD1d拘束性に認識し、TCR α 鎖にインバリエント鎖を発現する細胞集団を指すことが多い⁶⁻⁸⁾。このような性質をもつ細胞の大部分は、NK細胞のマーカー分子 (CD161 など) を発現している。NKT細胞は数のうえではマイナーな集団であるが、腫瘍免疫、感染免疫、自己免疫、免疫寛容などのさまざまな領域で重要な役割を果たす。NKT細胞の特にきわだった特徴としては、糖脂質/CD1dを認識することのほかに、TCRを介したシグナルが入ると数時間以内にIL-4やIFN- γ などの調節性サイトカインを大量に産生することがあげられる。当初、IL-4の産生能にのみ興味が集まり、NKT細胞はTh1免疫応答を制御する細胞であるという単純な見かたが広まった。しかし、NKT細胞にはIFN- γ やTNF- α を産生する能力もあり、状況によっては免疫応答をTh1に偏倚させる。たとえば、 α -GalCerによる1回刺激でTh1サイトカインを強く産生するのに対し、変換リガンドで刺激すると、Th2サイトカイン産生が優位になる⁴⁾。また、同じTh1細胞の介在する自己免疫疾患でも、NKT細胞を除去することによって増悪する場合と、軽快する場合がある。前者はNODマウス (non obese diabetic mouse) の1型糖尿病であり⁹⁾、後者はコラーゲ

ン誘導関節炎である⁵⁾。このようにNKT細胞は二面性 (多面性) をもつ細胞であることを認識する必要がある。NKT細胞の二面性は、同細胞が複数の細胞集団から構成されていることによって一部は説明できるが、単一細胞レベルでも状況によって異なる性質を発揮することがわかっている (後述)。

2. 調節細胞として機能するのはCD4⁺NKT細胞か?

NKT細胞はCD4⁻NKT細胞とCD4⁺NKT細胞に大別され、CD4⁻NKT細胞の大部分はCD4⁻CD8⁻ (double-negative) である。マウスではCD4⁺細胞が優勢であるが、ヒトではCD4⁻細胞の数が多。従来、CD4⁻とCD4⁺NKT細胞は同様の機能をもつ集団であるかのごとく、一括して解析されてきた。しかし、ヒトNKT細胞を研究している複数のグループによる最近の解析結果は、ほぼ一致して、CD4⁻とCD4⁺NKT細胞が機能的に異なることを示唆している¹⁰⁻¹²⁾。たとえば、CD4⁻NKT細胞は主にIFN- γ やTNF- α などの炎症性サイトカインを産生するのに対し、CD4⁺NKT細胞は炎症性サイトカインに加えてIL-4, IL-5, IL-10, IL-13などのTh2サイトカインも産生する。したがって、Th2偏倚を誘導する調節細胞としての能力をもつのはCD4⁺NKT細胞であって、CD4⁻NKT細胞ではないことが推測されている。最近になって、マウスでもCD4⁻とCD4⁺NKT細胞の機能的差異を示唆する論文が発表されている¹³⁾。このように、NKT細胞が機能的に異なる細胞集団 (CD4⁻とCD4⁺) から構成されていることは、NKT細胞の二面性を理解する際に重要なポイントとなる。

自己免疫疾患とNKT細胞

1. 自己免疫疾患でNKT細胞は減るのか？ 増えるのか？

NKT細胞が発見されて以来、ヒト自己免疫疾患や動物モデルでNKT細胞の数が減少しているという報告が相次ぎ、NKT細胞減少は自己免疫

疾患を特徴づける重要な変化であって、その発症に促進的に作用するという解釈がなされてきた。しかし、最近になって1型糖尿病ではNKT細胞数には変化はないという報告¹⁴⁾、その初期には増加しているという報告も現れ¹⁵⁾、混沌とした状況になっている。解析結果が一致しない理由としては、解析症例における病勢のばらつき、投与薬剤の影響、解析方法の違い、などが可能性としてあげられる。筆者らは、未治療の寛解期MS患者では、末梢血NKT細胞数が明らかに減少していることを複数の方法で確認しており^{16, 17)}、自己免疫疾患の発症にNKT細胞減少は関係しないというBendelacの論調には賛同できない。MS寛解期の患者において、さらにCD4⁻とCD4⁺NKT細胞を個別に解析した結果、CD4⁻NKT細胞の減少は著明であったが、CD4⁺NKT細胞の減少は有意ではなかった¹⁷⁾。NKT細胞数の増減を論じる際には、NKT細胞全体でなく、CD4⁻、CD4⁺各サブセットに分けて評価することによって、新たな展望が開けてくることを示唆している。

2. 自己免疫疾患でNKT細胞の機能は変化しているか？

NKT細胞は数が少ないので、その機能的解析はきわめて困難な課題であるが、これまでに患者末梢血から樹立したクローンや細胞株を使った解析結果が報告されている。Haflerらは1型糖尿病ではNKT細胞がTh1に偏倚しているという論文を発表したが¹⁸⁾、その後確認が取れていないようである。彼らの論文によると、CD4⁻NKT細胞クローンもIL-4を大量に産生しており、アッセイがはたして適切かどうかの疑問が残る。一方、筆者らは、MS寛解期に樹立したCD4⁺NKT細胞株ではIL-4産生能が亢進しており、Th2に偏倚していることを最近報告した¹⁷⁾。主に炎症性サイトカインを産生する細胞集団 (CD4⁻NKT細胞) が減少し、調節細胞として働く集団 (CD4⁺NKT細胞) がTh2に偏倚していることは、MSの寛解維持に貢献するような変化だととらえられる。興味深いことに、アトピー患者においても同様の変

化が報告されており¹⁹⁾、MS寛解期およびアトピー性疾患におけるTh2偏倚にNKT細胞が関与する可能性が考えられる。今後、同じようなアプローチによって、1型糖尿病や他の自己免疫疾患におけるNKT細胞の様態が再評価されることが期待される。

NKT細胞を標的とする治療

1. α -ガラクトシルセラミド—NKT細胞の雛形リガンド

α -GalCerは海綿の成分のなかから発見されたNKT細胞の糖脂質リガンドで、この糖脂質が発見されてからNKT細胞の研究が大きく発展したことは周知のごとくである。 α -GalCerでNKT細胞を刺激すると転移性腫瘍が抑制されることも証明され⁶⁾、NKT細胞の介在する免疫反応を糖脂質で修飾する試みが活発になった。筆者らは α -GalCerでEAEを治療しようと試みたが、通常の治療実験に準じたプロトコールでは、 α -GalCerのEAE抑制効果を証明できなかった²⁰⁾。しかし、IFN- γ ノックアウトに誘導したEAEは、 α -GalCerの単回投与で抑制されることを見出し、 α -GalCer刺激によりNKT細胞の産生するIFN- γ が、同時に産生されるIL-4によるEAE抑制効果に拮抗するのではないかと考えた (図1中)。同じころに、 α -GalCerでパルスした抗原提示細胞の発現するB7.2分子を抗体でブロックしCD28との結合を抑制すると、それに反応するNKT細胞がIL-4しか産生できないことを発見した (図1左)。そこで α -GalCerと抗B7.2抗体で処理した抗原提示細胞の移入実験を行い、この細胞移入によって、EAEが抑制されることを確認した²⁰⁾。この実験は、NKT細胞に選択的IL-4産生を誘導すれば、Th1細胞による病態の制御が可能であることを意味した。ただ方法が複雑なため、よりシンプルな方法の開発が期待された。

筆者らの研究が発表されたあと、 α -GalCerがNODマウスの1型糖尿病の発症を抑えるという論文^{21, 22)}や、EAEも α -GalCerで抑制できるとい

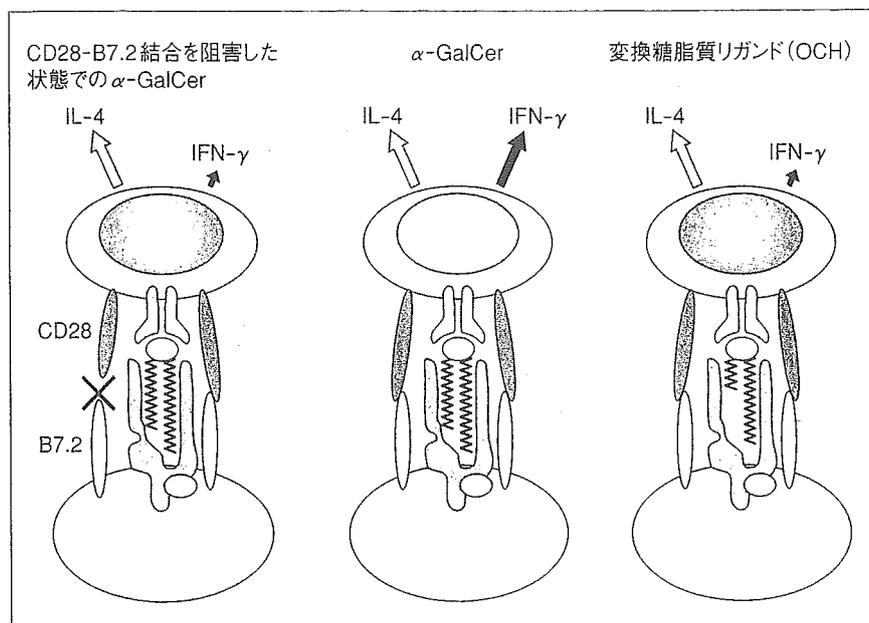


図1 糖脂質刺激によるNKT細胞のIFN- γ /IL-4産生

α -GalCer刺激では、IFN- γ とIL-4の両方が産生されるが、OCH刺激、またはCD28-B7.2結合を阻害した状態での α -GalCer刺激では、IL-4の産生が優勢となる。

う論文²³⁻²⁵⁾が発表された。NODマウスの実験については筆者らの研究室でも追試できた。一方、EAE実験については再現ができていない。欧米から発表されたこれらの論文は臨床応用まで考えた研究ではなく、筆者らの実験結果と直接対応させるのは困難である。

2. OCH—最初の変換糖脂質リガンド⁴⁾

最初に述べたように、NKT細胞は多面性をもつ細胞であり、自己免疫疾患については、それを促進する機能(Th1サイトカイン産生)と抑制する機能(Th2サイトカイン産生)を發揮しうる。 α -GalCerはたいへん強力なリガンドであるが、それゆえNKT細胞に炎症性サイトカインと調節性サイトカインの両方を産生させてしまう。筆者らは、 α -GalCerの構造を変化させれば、NKT細胞にTh2サイトカインのみを産生させる弱いアゴニストが開発できるのではないかと考えた。この発想は、APLの概念から拝借したものではあるが、多型性のないCD1d分子に結合した糖脂質において、構造の変換がどのような活性の変化に結びつくのか興味をもたれた。

筆者らは異なる構造を取る α -GalCerアナログを複数合成したが、最終的にOCHと命名したアナログに、NKT細胞の選択的IL-4産生を誘導する能力のあることを見出した(図1右)。OCHは

α -GalCerのスフィンゴシン鎖(S鎖)をC9個分だけ短くし、もう1本の脂肪鎖(F鎖)をC2個分だけ短くしたアナログである。B6マウスの腹腔内に投与し、経時的に血清中のサイトカイン濃度を測定する実験を行ったところ、 α -GalCerの投与後に迅速なIL-4の上昇と、それに引き続くIFN- γ の上昇がみられるのに対し、OCH投与ではIL-4は上昇するが、IFN- γ の有意な上昇はみられないことがわかった(図2A)。試験管内実験でも類似した結果が得られ、OCHはNKT細胞の免疫調節能だけを引き出す能力をもつ糖脂質であることが示唆された。OCHはCD1dとの結合能が弱く、その結果、NKT細胞のTCRとのavidityが弱くなる可能性が考えられる。もしそうであれば、OCHに限らず、 α -GalCerでも低濃度ではNKT細胞にIL-4のみを産生させるかもしれない。しかし、実際に低濃度の α -GalCerをマウスに投与したところ、サイトカイン産生はIL-4およびIFN- γ について一様に低下し、OCH型の選択的なIL-4誘導はみられなかった。以上の結果から、OCHは α -GalCerとは質的に明らかに異なる、変換糖脂質リガンド(altered glycolipid ligand; AGL)であると考えられる。

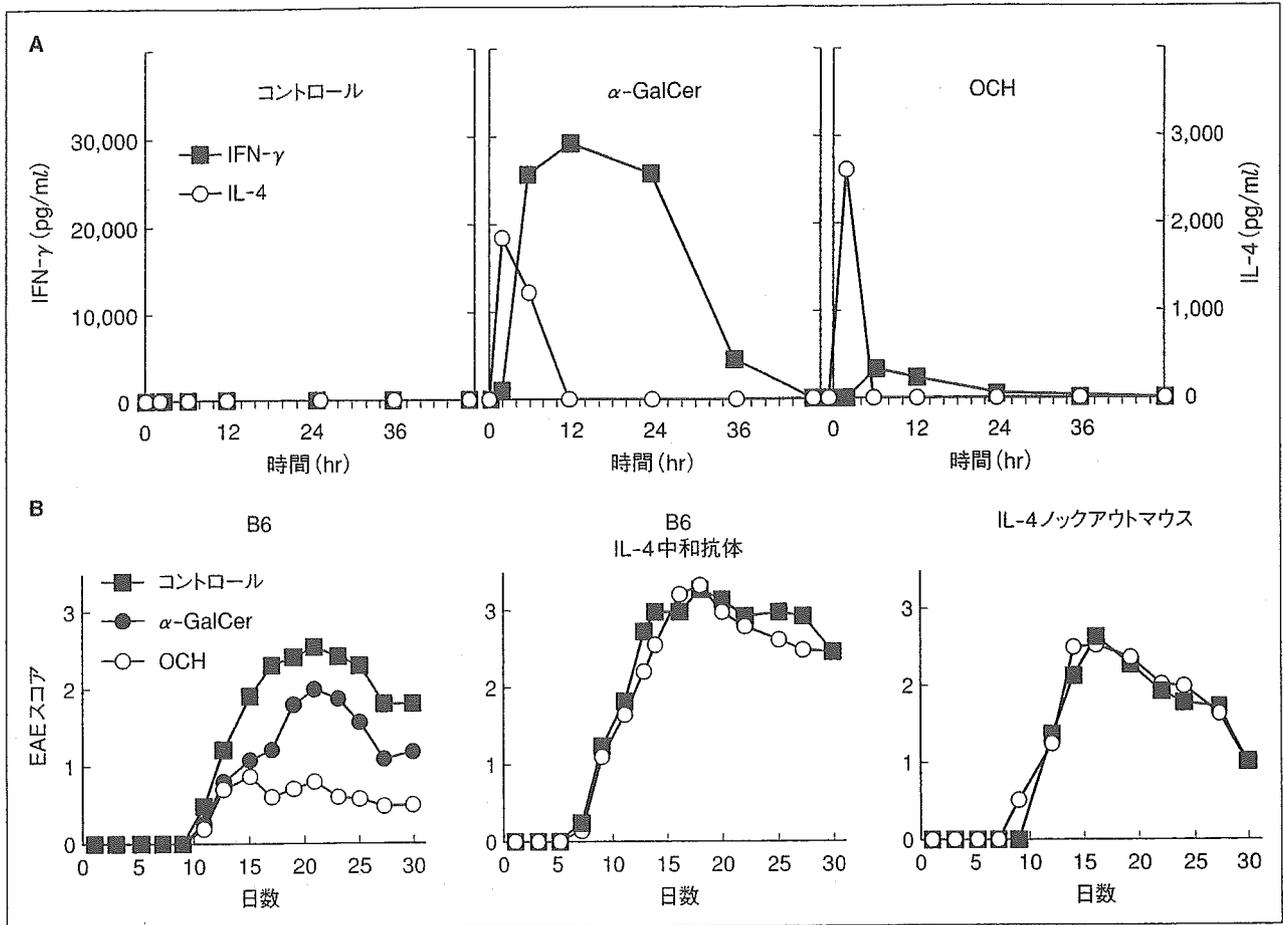


図2 OCH 投与による血清中サイトカインの上昇と EAE の抑制

A : α -GalCer と OCH 投与に引き続く血清中サイトカインの上昇。

B : OCH 経口投与による EAE の抑制。IL-4 中和抗体を OCH と同時に投与すると EAE の抑制は観察されなくなる。また IL-4 ノックアウトマウスでは OCH は EAE 抑制効果を示さない。
(Miyamoto K, et al. *Nature* 413, 531-4, 2001⁴⁾ より)

3. OCH による自己免疫疾患モデルの抑制

筆者らは以上の検討の結果、OCH には EAE を抑制する活性があると推察し、野生型 B6 マウスに MOG ペプチドで誘導する EAE モデルによって検証した。実験の結果、OCH の腹腔内または経口的投与 (1 回投与) によって、EAE が有意に抑制されることが確認された⁴⁾。OCH による EAE の抑制は、NKT 細胞を欠損する *Ja281* ノックアウトマウスや IL-4 ノックアウトマウスでは観察されないこと、IL-4 の中和抗体の同時投与で解除されることがわかった (図 2B)。したがって、糖脂質による NKT 細胞の活性化を介する抑制であり、NKT 細胞の産生する IL-4 を介するものであると考えられた。また OCH の投与を受けたマウスでは、抗 MOG 抗体 IgG1 アイソタイプ (Th2 T

細胞の活性を反映) の上昇が著明であり、MOG 特異的抗体の IgG1/IgG2 も上昇していることから、EAE を誘導する MOG 特異的自己反応性 T 細胞の Th2 偏倚が誘導されていることが示唆された。NKT 細胞の AGL による最初の自己免疫疾患治療実験は、このように大きな成功を収めた。

B6 マウスの EAE は急性一過性の経過を取り、OCH 長期投与の実験が不可能であった。次に OCH が慢性炎症や慢性再発性自己免疫疾患にも予防効果を発揮するかどうかを検討することにした。実験にはコラーゲン誘導関節炎と SJL/J マウスにプロテオリピッドタンパク (proteolipid protein ; PLP) ペプチドで誘導する再発性 EAE を用い、週 2 回の腹腔内投与を継続した。関節炎は、OCH の予防的投与 (発症前治療開始) および発