

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_2 R刺激はマクロファージのIL-6産生を促進するが α_2 R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_2 R、 α_2 R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) Makhlouf 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.

* * *



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

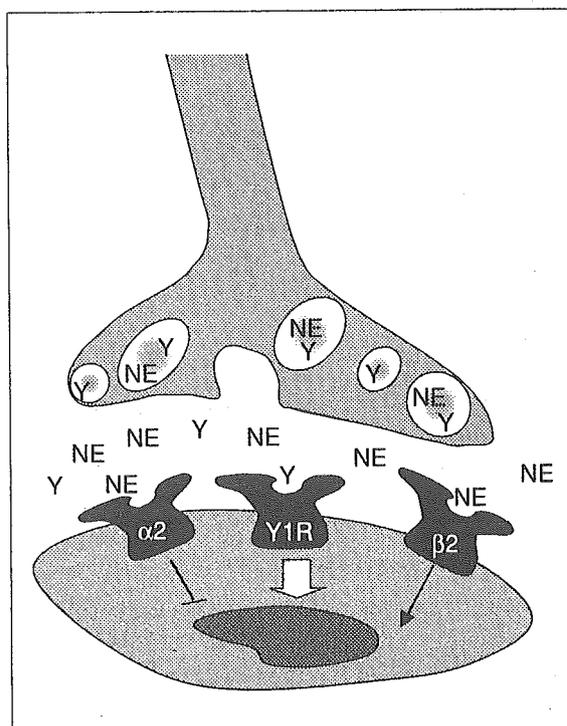


図1 交感神経-免疫制御におけるノルエピネフリン(NE)とNPYの役割

交感神経末端には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³⁾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

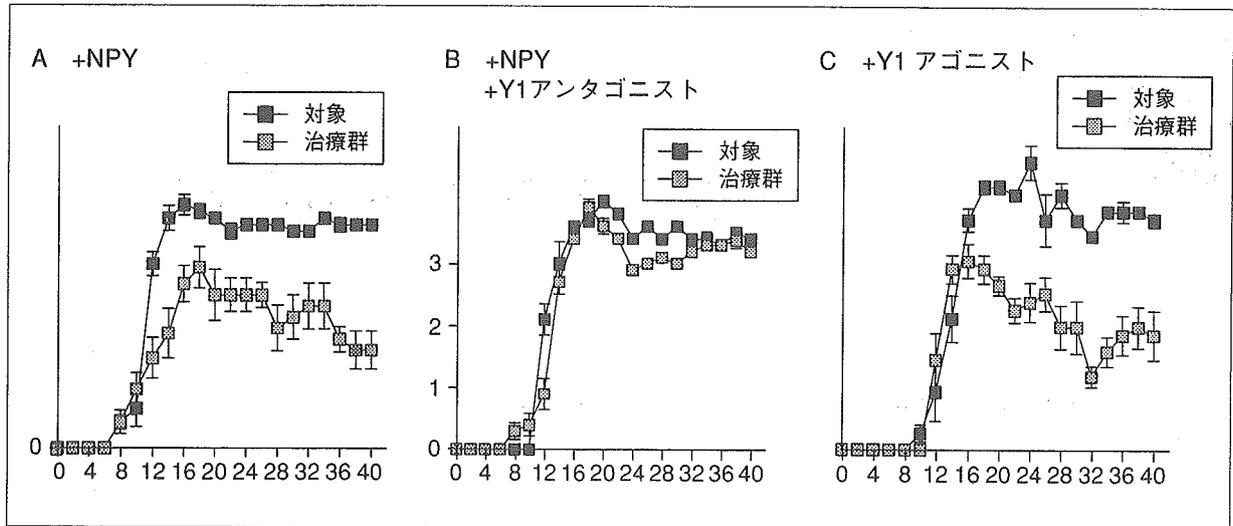


図2 NPYによるEAEの抑制はY1受容体を介する

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

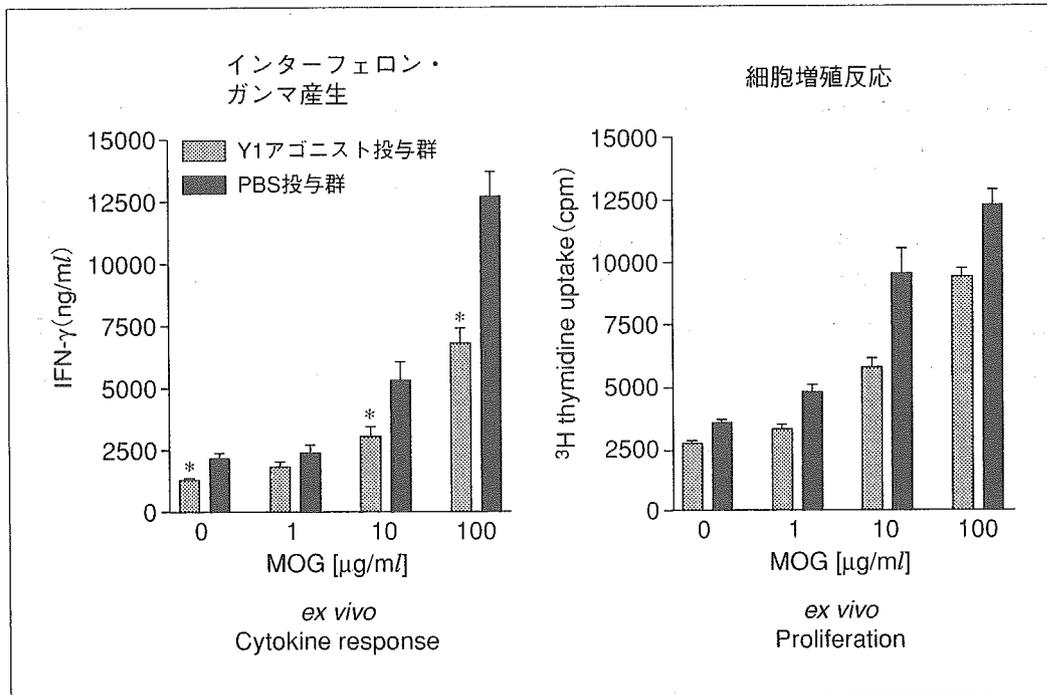


図3 NPY投与による感作T細胞のインターフェロン・ガンマ産生能の低下
 MOG₃₅₋₅₅ペプチドで感作したB6マウスに、Y1アゴニストまたはphosphate buffered saline (PBS)を隔日に投与し、約10日後に所属リンパ節細胞を摘出した。リンパ球をMOG₃₅₋₅₅ペプチド(1~100 µg/ml)で刺激し、細胞増殖反応(右パネル)と培養上清中のサイトカインをELISAで測定した。*はY1アゴニスト投与群で有意に低下していることを示す($p < 0.0001$)。(文献⁹⁾より引用改変)

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) 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.
- 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： $V\alpha 14 J\alpha 281$ ，ヒト： $V\alpha 24 J\alpha Q$)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。

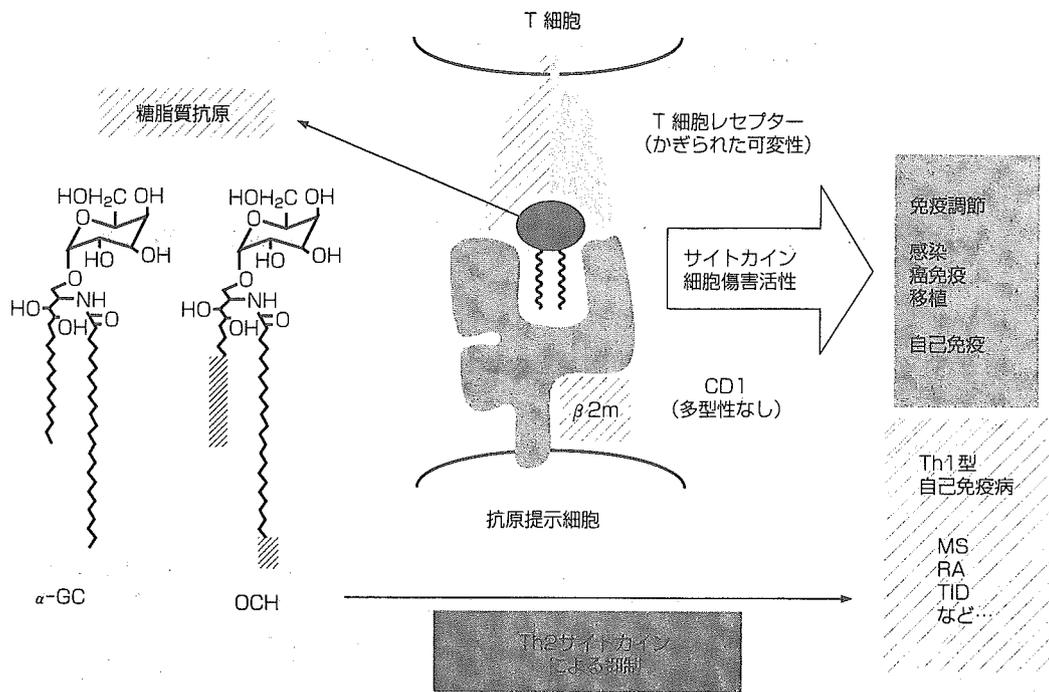
1. NKT細胞とは

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 $V\alpha 14 J\alpha 18$ ，ヒトでは $V\alpha 24 J\alpha 18$)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i $V\alpha 14$ (ヒトでは $V\alpha 24$)NKT細胞と定義して概説する^{1)~3)}。 $V\alpha 14$ NKT細胞は、かぎられた $V\beta$ 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(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。CD1分子は $\beta 2$ 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 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。

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)。CD1ファミリーには、ヒトではグループ1 CD1 (CD1 a, b, c) とグループ2 CD1 (CD1 d) が知られているが、マウスでは CD1 d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。CD1 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ト (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 (lipoarabinomannan: LAM) を抗原提示することなどから、CD1 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 GD3、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。

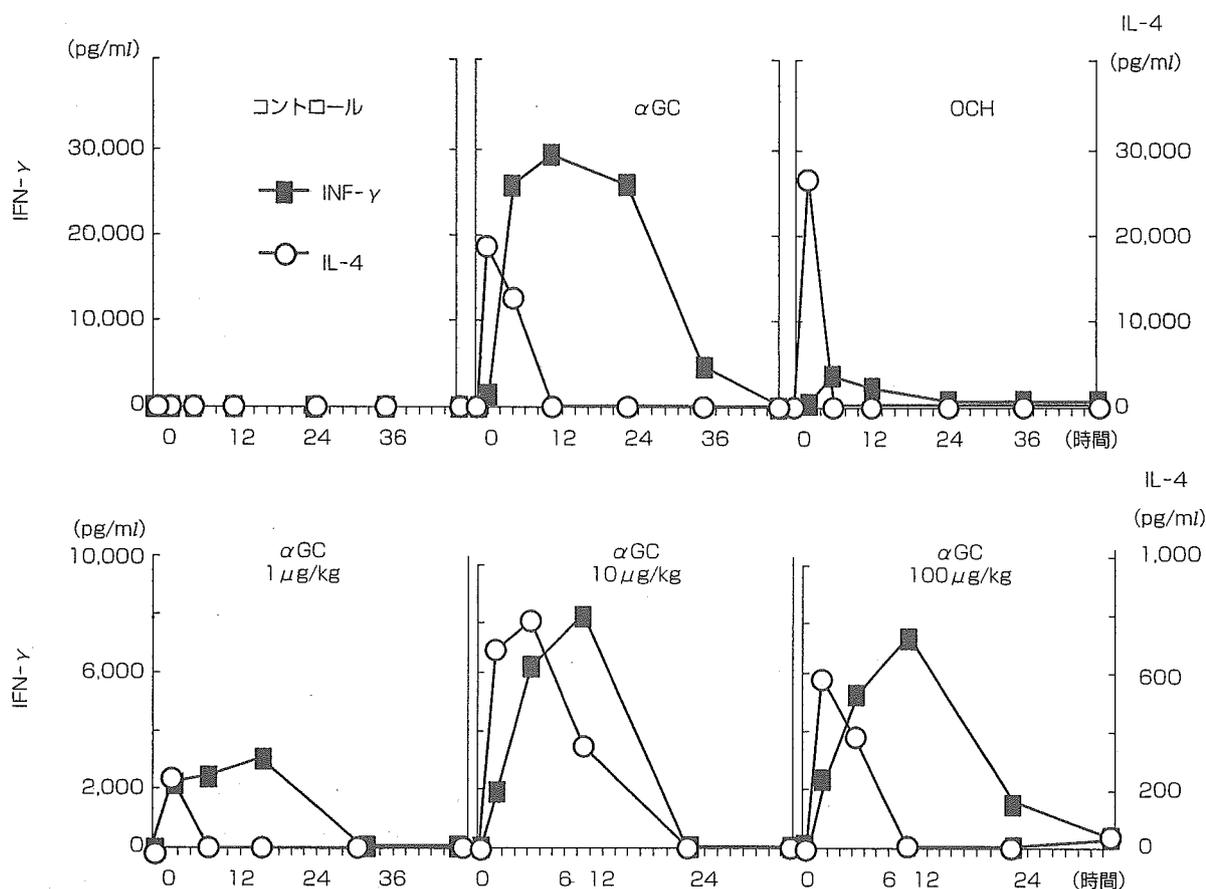
3. 変異リガンドとその生物活性

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

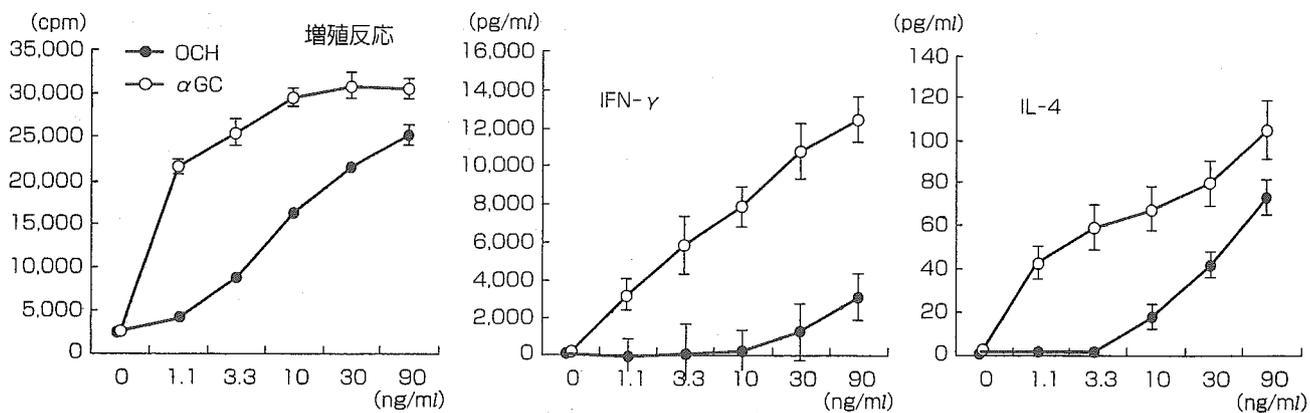
産生する Th1 サイトカインが病態悪化につながると考えられている Th1 優位な自己免疫疾患を抑制することが期待された。しかし、 α -GC は、NOD マウスにおける T1D は抑制するが、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE), コラーゲン関節炎 (collagen induced arthritis : CIA), 炎症性腸炎モデルなどの抑制効果は弱い^{14)~16)}。EAE では IFN- γ 遺伝子欠損マウスでは、 α -GC は病態を抑制することから、 α -GC が EAE に無効である理由は、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* の結果と相関し, OCH は IL-4 を選択的に産生させる.

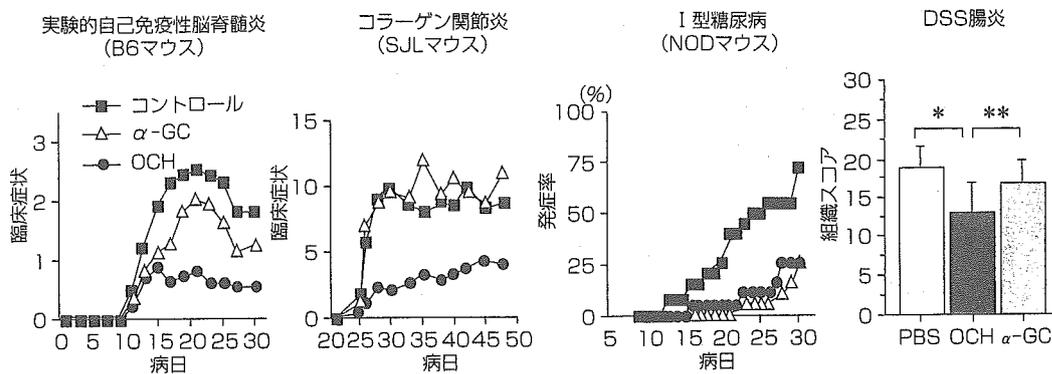


図3 合成糖脂質による自己免疫疾患モデル抑制効果 (Chiba A *et al*, 2004¹⁵⁾, Ueno Y *et al*, in press¹⁶⁾, Mizuno M *et al*, in press¹⁹⁾より改変引用)
 OCHは実験的自己免疫性脳脊髄炎, コラーゲン関節炎, NODマウスにおける糖尿病, DSS腸炎などのTh1優位な自己免疫疾患モデルの病態を抑制する. NODマウスにおける糖尿病は, α -GCによってもよく抑制される.
 *** $p < 0.05$

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 $J\alpha$ 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, $V\alpha$ 14- $J\alpha$ 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⁵⁾。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⑤)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⑥)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⑥)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, 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。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り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) Brigl 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 α 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* : CDd-restricted and TCR-mediated activation of V α 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-presenta-

- tion 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 α 24J1Q 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 α V24 α J18+, β V11+ 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 α 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 Va14 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

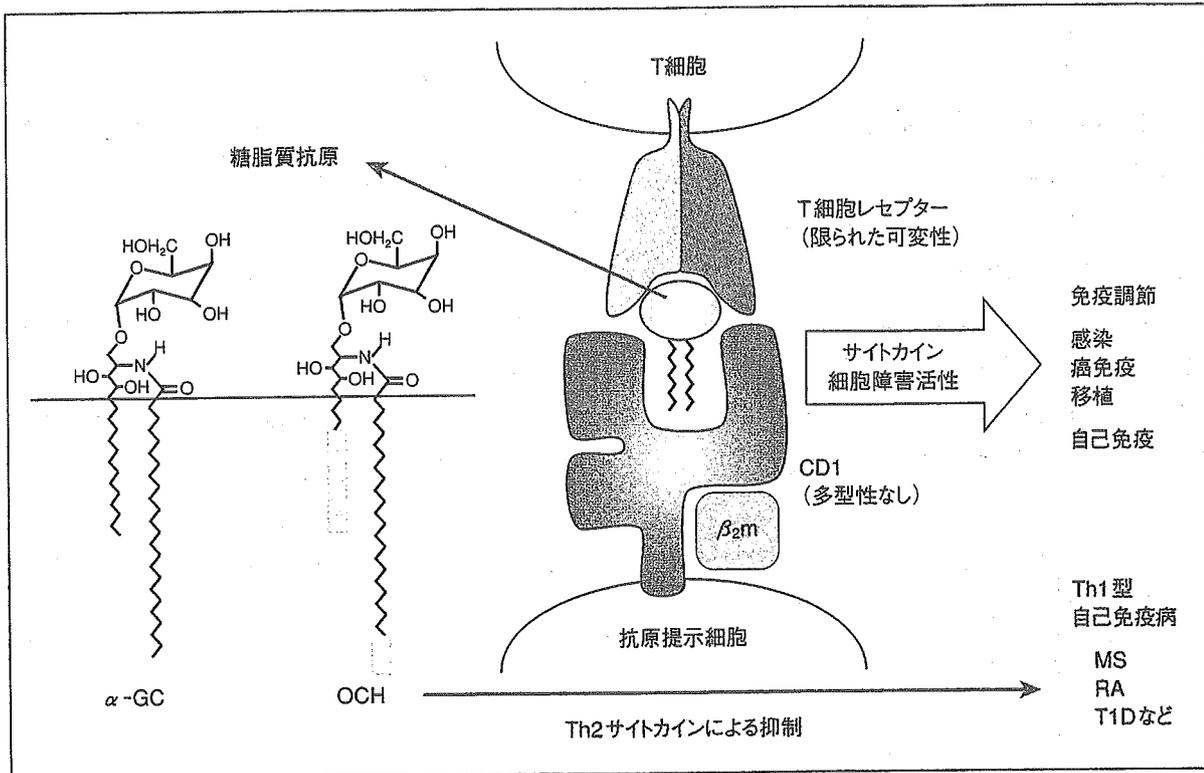


図1 NKT細胞による免疫調節

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 α 14j α 281, ヒトではV α 24j α Q)を発現し、限られた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偏倚を起こし、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、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