

200833022A

厚生労働科学研究費補助金
こころの健康科学研究事業

MR1拘束性T細胞（MAIT細胞）を介した
多発性硬化症の予防と治療に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 村 隆

平成21年（2009年）3月

厚生労働科学研究費補助金
こころの健康科学研究事業

MR1拘束性T細胞（MAIT細胞）を介した
多発性硬化症の予防と治療に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山 村 隆

平成21年（2009年）3月

目 次

I. 総括研究報告

- MR1 拘束性 T 細胞(MAIT 細胞)を介した多発性硬化症の予防と治療に関する研究
国立精神・神経センター神経研究所 山村 隆 1

II. 分担研究報告

- 腸内環境偏倚による自己免疫疾患修飾における NKT 細胞の関与に関する研究
国立精神・神経センター神経研究所 山村 隆 5
- 自己免疫と MR1 拘束性 T 細胞に関する研究
国立精神・神経センター神経研究所 三宅 幸子 8
- 合成レンチノイドによる Th17 細胞制御に関する研究
国立精神・神経センター神経研究所 大木 伸司 12
- Invariant $V\alpha 19$ TCR 発現細胞の機能を介した自己免疫性神経疾患治療のための基礎研究
(株)三菱化学生命科学研究所 島村 道夫 15
- AIRE 分子欠損マウスの開発と供給および胸腺上皮細胞の役割に関する研究
徳島大学疾患酵素学研究センター 松本 満 22
- 多発性硬化症の免疫制御機能の解析に関する研究
国立精神・神経センター神経研究所 荒浪 利昌 25

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 28

IV. 研究成果の刊行物・別刷 31

I. 総括研究報告

MR1 拘束性 T 細胞 (MAIT 細胞) を介した多発性硬化症の予防と治療に関する研究
研究代表者 山村 隆 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第六部部长

研究要旨

多発性硬化症の発症には遺伝因子と環境要因の両者が密接に関与するが、近年の多発性硬化症患者数の増加傾向は、生活環境の変化とそれに伴う免疫制御系の変調を推測させる。我々は環境因子を解析するために抗生物質投与による動物モデル EAE の軽症化を見だし、多発性硬化症の環境因子解析に役立てることを試み、あわせて遺伝因子の解析に自己免疫制御遺伝子 *aire* を欠損するマウスを用いて解析を進めて来た。本年度は、抗生物質投与による EAE の軽症化には、CD1d 拘束性 NKT 細胞の関与が必須であることを明らかにした。NKT 細胞を欠損する遺伝子改変マウス (CD1d KO、および $J\alpha 281$ KO) では抗生物質投与の効果がみられず、一方、MR1 拘束性 MAIT 細胞を欠損するマウスでは抗生物質の効果が見られたことから、NKT 細胞の重要性が明確になったと言える。あわせて、腸管免疫における Th17 細胞の生存・維持に NKT 細胞が決定的な役割を果たすことも証明できた。腸管内の NKT 細胞を適切に制御することによって、多発性硬化症などの自己免疫疾患の発症を抑制できる可能性がある。Aire 欠損マウスを用いた解析により、同マウスにおいて特定の自己抗原に対する自己免疫寛容が破綻していること、老齢の同マウスが、中枢神経内に炎症性病変を発症することなどを明らかにした。今後、環境要因と遺伝因子の関連を調べる実験系として発展させたい。

研究分担者

三宅幸子 国立精神・神経センター 室長
大木伸司 国立精神・神経センター 室長
島村道夫 (株)三菱化学生命科学研究所
ユニットリーダー
松本 満 徳島大学疾患酵素学研究センター
教授
荒浪利昌 国立精神・神経センター 室長

A. 研究目的

近年我が国では多発性硬化症の患者数増加が著しいが、我々は腸内細菌叢と免疫系の関係に着目し、生活習慣の欧米化による腸内細菌の変化が関与する可能性を考えて研究を進めている。昨年度までに、抗生物質投与によって腸内細菌を偏倚させると、多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳炎 (EAE) の臨床および病理像が軽減することを明らかにし、この抑制が $\beta 2$ -microglobulin KO マウスで見られなくなることから、MHC class I 拘束性の T 細胞の関与することを示した。抗生物質投与による EAE の抑制には、腸内細菌叢の影響を強く受ける免疫

制御細胞の活性化が関与する可能性が考えられる。本年は、抗生物質投与の影響が、腸管粘膜に存在する免疫制御細胞である CD1d 拘束性の NKT 細胞あるいは MR1 拘束性 mucosal associated invariant T (MAIT) 細胞 (いずれも $\beta 2$ -microglobulin ノックアウトで欠損) を介する可能性を検討した。

自己免疫調節 (AIRE) 遺伝子は胸腺髄質上皮細胞 (medullary Thymic Epithelial Cells, mTEC) に特異的に発現しており、種々の自己蛋白の mTEC での発現と、それによる自己反応性 T 細胞の除去、すなわち中枢性免疫寛容の成立に必須の遺伝子である。そのため AIRE ノックアウト (KO) マウスにおいては、種々の臓器に対する自己免疫疾患を自然発症する。しかし、中枢神経系自己免疫疾患への AIRE の関与は、詳細には検討されてこなかった。そこで、二つの代表的髄鞘抗原である、Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (MOG) および Proteolipid Protein (PLP) に対する自己免疫反応における AIRE の重要性を、AIRE KO マウスを用いた 2 つの実験系で検討した。一つは、髄鞘抗原を免疫する実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE)、もう一つは無免疫状態での自然発症自己免疫反応である。

B. 研究方法

EAE は MOG 35-55 ペプチドを用いて、B6 背景の野生型マウス、MR1 ノックアウト (KO) マウス、 β 2-microglobulin KO、CD1d KO および $J\alpha$ 281 KO に誘導した。抗生物質 (kanamycin, colistin, vankomycin ; KCV と略) は、EAE 誘導の1週間前より飲用水に添加した。所属リンパ節、腸間膜リンパ節、および腸管粘膜固有相よりリンパ球を分離し、フローサイトメーターおよび RT-PCR を用いて Th17 細胞関連遺伝子の発現を解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験は国立精神・神経センターの動物実験指針に基づき、同倫理審査委員会の承認を受けた上で行った。

C. 研究結果

KCV 連続投与によって野生型マウスにおける EAE の臨床症状は有意に抑制されたが、クラス I 拘束性 T 細胞を欠損する β 2-microglobulin KO においては、抑制効果が得られなかった。MAIT 細胞を欠損する MR1 KO マウスと NKT 細胞を欠損する CD1d KO および $J\alpha$ 281 KO で同様の実験を行った。その結果、MAIT 細胞欠損マウスでは抗生物質投与の影響が見られるのに対し、NKT 細胞欠損マウスでは見られないことがわかった。それに平行して、腸間膜リンパ球を採取して、その IL-17 産生能を評価した。抗 CD3 抗体/抗 CD28 抗体刺激後の培養上清のサイトカインレベルを評価したところ、EAE 実験の結果と同様に NKT 細胞欠損マウスにおいて抗生物質投与の影響が著明に減弱していることがわかった。さらに腸管粘膜固有相のリンパ球を分離し、Th17 細胞関連分子である ROR γ t、IL-21、IL-23、IL-6 などの発現を RT-PCR で評価したところ、NKT 細胞欠損マウス、および抗生物質投与野生型マウスの両方で、同等に ROR γ t の発現が低下しており、抗生物質投与が NKT 細胞を介して粘膜固有相の Th17 細胞に影響を与えることが支持された。

(aire KO マウス実験)

野生型と AIRE KO マウスを種々の髄鞘蛋白で免疫して EAE を誘導したところ、mTEC での髄鞘蛋白の発現量と、EAE 重症度の間には相関があることが判明した。すなわち、MOG 免疫後の EAE は差がなかったのに対し、PLP 誘導後は、AIRE KO マウスで有意な重症化が認められた。EAE 重症化の原因を明らかにするため、免疫したマウスの所属リンパ節細胞を、免疫原で再刺激した際のサイトカイン産生を解析した。その結果、MOG 免疫後の IL-17 と IFN- γ 産生量には両系統間で差がなかったが、PLP 免疫後には AIRE KO マウスにおける両サイトカイン産生が有意に亢進していた。脊髄浸潤細胞によるサイトカイン産生では、野生型は刺激後のサイトカイン産生がほとんど見られなかったのに対し、AIRE KO マウスでは、IFN γ 、IL-17 ともに強い産生が認められた。

D. 考察

NKT 細胞は IL-4 や IFN- γ などの制御性サイトカインを大量に産生し、自己免疫疾患の制御細胞として重要な役割を果たす。特定の NKT 細胞リガンドの経口投与によって EAE が抑制されることを考えると、抗生物質投与によって腸内細菌が疾患抑制的な糖脂質リガンドを新たに産生するようになる可能性、あるいは疾患促進的な糖脂質リガンドを産生する腸内細菌が減弱する可能性などが考えられる。腸管 Th17 細胞の発生において腸内細菌叢が決定的な役割を果たすことが、複数の研究グループから報告されているが、NKT 細胞の関与を明らかにしたのは、我々の報告が初めてであり (Yokote et al. *Am J Pathol* 2008)、今後のさらなる研究の展開が期待できる。また aire KO マウスでは、髄鞘抗原のうち、MOG の免疫寛容の成立には関与せず、PLP の胸腺内発現と免疫寛容の誘導を制御することが判明した。さらに AIRE KO マウスでは、加齢とともに、無免疫でも髄鞘抗原に対する自己免疫応答が起きていることが示唆された。

E. 結論

抗生物質投与による腸内細菌偏倚が、NKT 細胞

を介して自己免疫病態の修飾につながる可能性が考えられる。自己免疫・アレルギー疾患の増加傾向を考える際に、重要な示唆を与える結果であり、治療薬開発の観点からも重要な意義がある。また多発性硬化症発症における遺伝素因を解析するうえで、*aire* 欠損マウスが有用であることが明らかになった。

F.健康危険情報

特になし。

G.研究発表

1. 論文発表

Doi, Y., S. Oki, T. Ozawa, H. Hohjoh, S. Miyake, and T. Yamamura: Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 8381-8386, 2008

Satoh, J-i., T. Misawa, H. Tabunoki, and T. Yamamura: Molecular network analysis of T-cell transcriptome suggests aberrant regulation of gene expression by NF- κ B as a biomarker for relapse of multiple sclerosis. *Dis Markers* 25: 27-35, 2008

Shimamura, M., Y-Y. Huang, R. Migishima, M. Yokoyama, T. Saitoh, and T. Yamamura: Localization of NK1.1⁺ invariant V α 19 TCR⁺ cells in the liver with potential to promptly respond to TCR stimulation. *Immunol. Lett.* 121: 38-44, 2008

Yokote, H., S. Miyake, J.L. Croxford, S. Oki, H. Mizusawa, and T. Yamamura: NKT cell-dependent amelioration of a mouse model of multiple sclerosis by altering gut flora. *Am. J. Pathol.* 173: 1714-1723, 2008

Aranami, T. and T. Yamamura: Th17 cells and autoimmune encephalomyelitis (EAE/MS). *Allergol. Int.* 57 115-120, 2008

Okamoto, T., M. Ogawa, Y. Lin, M. Murata, S. Miyake, and T. Yamamura: Treatment of

Neuromyelitis Optica: Current Debate. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders.* 1: 43-52, 2008

Araki, M., S. Miyake, and T. Yamamura: Synthetic glycolipid ligands for human iNKT cells as potential therapeutic agents for immunotherapy. *Curr. Medicinal. Chem.* 15: 2337-2345, 2008

2. 学会発表

Yokote H, Miyake S, Croxford J, Mizusawa H, Yamamura T: Alteration of gut flora ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in association with contraction of inflammatory Th17 cells. FOCiS 2008, Boston, June 6, 2008

Aranami T, Sato W, Yamamura T: Abnormally differentiated CD28 null TIM-3⁺ Th1 cells specifically respond to alpha B-crystalline. FOCiS 2008, Boston, June 7, 2008

Satoh J-i, Misawa T, Obayashi S, Tabunoki H, Yamamura T, Arima K, and Konno H: Gene expression profile of neuromyelitis optica brain lesions. 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.26, 2008

Aranami T, Sato W, and Yamamura T: Abnormally differentiated CD28 null TH1 cells specifically respond to aB-crystalline in multiple sclerosis. 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.26, 2008

Klemann C, Oki S, Klemann AK, Ozawa T, Doi Y, Shudo K, and Yamamura T: Synthetic retinoid AM80 ameliorates EAE by attenuating TH17-mediated inflammation. 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.29, 2008

Lin Y, Miyake S, and Yamamura T: The dominance of encephalitogenic peptide correlates to its ability to induce potent regulatory T cells. 9th

International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.29, 2008

Yamamura, T.: Orphan nuclear receptor NR4A2 and inflammatory cascade of MS/EAE. Plenary Session. Effector Mechanisms, IXth International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, October 29, 2008

山村 隆：特別講演 V. 免疫制御システムと神経免疫疾患. 第 20 回日本神経免疫学会, 新潟, 4.17, 2008

山村 隆：免疫疾患としての多発性硬化症. シンポジウム SY-4-1「多発性硬化症の病態と治療：臨床と基礎の最前線」第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5.16, 2008

山村 隆：多発性硬化症の分子病態と治療標的. シンポジウム「疾患の病態と分子医学」日本臨床分子医学会, 神戸, 7.24, 2008

山村 隆：多発性硬化症の病態解析から治療標的の同定へ. シンポジウム3「疾患の制御 - 臨床から免疫へ」, 日本臨床免疫学会, 東京, 10.18, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書

腸内環境偏倚による自己免疫疾患修飾における NKT 細胞の関与に関する研究

研究分担者 山村 隆 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第六部部長

研究要旨

近年、免疫アレルギー疾患の患者数の増加傾向が著しいが、その背景に生活環境の変化とそれに伴う免疫制御系の変調が推測されている。我々は抗生物質投与によって腸内細菌叢を偏倚させることにより、自己免疫疾患の動物モデル EAE の臨床および病理像が軽症化することを見いだした。昨年度は、抗生物質投与の影響が MHC class I 拘束性の T 細胞を欠損するマウス ($\beta 2$ -microglobulin ノックアウト (KO)) で見られなくなることを報告した。今年度は、MHC class I 拘束性 T 細胞の中でも、CD1d 拘束性 NKT 細胞の関与が必須であることを明らかにした。NKT 細胞を欠損する遺伝子改変マウス (CD1d KO、および J α 281 KO) では抗生物質投与の効果が見られず、一方、MR1 拘束性 MAIT 細胞を欠損するマウスでは抗生物質の効果が見られたことから、NKT 細胞の重要性が明確になったと言える。あわせて、腸管免疫における Th17 細胞の生存・維持に NKT 細胞が決定的な役割を果たすことも証明できた。腸管内の NKT 細胞を適切に制御することによって、多発性硬化症などの自己免疫疾患の発症を抑制できる可能性がある。

A. 研究目的

近年我が国では多発性硬化症の患者数増加が著しいが、我々は腸内細菌叢と免疫系の関係に着目し、生活習慣の欧米化による腸内細菌の変化が関与する可能性を考えて研究を進めている（「自己免疫疾患の生活習慣仮説」。昨年度までに、抗生物質投与によって腸内細菌を偏倚させると、多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳炎 (EAE) の臨床および病理像が軽減することを明らかにし、この抑制が $\beta 2$ -microglobulin KO マウスで見られなくなることから、MHC class I 拘束性の T 細胞の関与することを示した。しかし、MHC class I 拘束性 T 細胞のいずれの細胞集団が関与するか明確でなかった。抗生物質投与による EAE の抑制には、腸内細菌叢の影響を強く受ける免疫制御細胞の活性化が関与する可能性が考えられる。本年は、抗生物質投与の影響が、腸管粘膜に存在する免疫制御細胞である CD1d 拘束性の NKT 細胞あるいは MR1 拘束性 mucosal associated invariant T (MAIT) 細胞 (いずれも $\beta 2$ -microglobulin ノックアウトで欠損) を介する可能性を検討した。

B. 研究方法

EAE は MOG 35-55 ペプチドを用いて、B6 背景の野生型マウス、MR1 ノックアウト (KO) マウス、 $\beta 2$ -microglobulin KO、CD1d KO および J α 281 KO に誘導した。抗生物質 (kanamycin, colistin, vankomycin ; KCV と略) は、EAE 誘導の 1 週間前より飲用水に添加した。所属リンパ節、腸間膜リンパ節、および腸管粘膜固有相よりリンパ球を分離し、フローサイトメーターおよび RT-PCR を用いて Th17 細胞関連遺伝子の発現を解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験は国立精神・神経センターの動物実験指針に基づき、同倫理審査委員会の承認を受けた上で行った。

C. 研究結果

KCV 連続投与によって野生型マウスにおける EAE の臨床症状は有意に抑制されたが、クラス I 拘束性 T 細胞を欠損する $\beta 2$ -microglobulin KO においては、抑制効果が得られなかった。MAIT 細胞を欠損する MR1 KO マウスと NKT 細胞を欠損する CD1d KO および J α 281 KO で同様の実験を行った。その結果、MAIT 細胞欠損マウスでは抗生物質投与の影響が見られるのに対し、NKT 細

胞欠損マウスでは見られないことがわかった。それに平行して、腸間膜リンパ球を採取して、その IL-17 産生能を評価した。抗 CD3 抗体/抗 CD28 抗体刺激後の培養上清のサイトカインレベルを評価したところ、EAE 実験の結果と同様に NKT 細胞欠損マウスにおいて抗生物質投与の影響が著明に減弱していることがわかった。さらに腸管粘膜固有相のリンパ球を分離し、Th17 細胞関連分子である ROR γ t、IL-21、IL-23、IL-6 などの発現を RT-PCR で評価したところ、NKT 細胞欠損マウス、および抗生物質投与野生型マウスの両者で、同等に ROR γ t の発現が低下しており、抗生物質投与が NKT 細胞を介して粘膜固有相の Th17 細胞に影響を与えることが支持された。以上の結果から、NKT 細胞が腸内環境の変化をモニターする制御細胞として重要な役割を果たすことが推測される。

D. 考察

NKT 細胞は IL-4 や IFN- γ などの制御性サイトカインを大量に産生し、自己免疫疾患の制御細胞として重要な役割を果たす。特定の NKT 細胞リガンドの経口投与によって EAE が抑制されることを考えると、抗生物質投与によって腸内細菌が疾患抑制的な糖脂質リガンドを新たに産生するようになる可能性、あるいは疾患促進的な糖脂質リガンドを産生する腸内細菌が減弱する可能性などが考えられる。腸管 Th17 細胞の発生において腸内細菌叢が決定的な役割を果たすことが、複数の研究グループから報告されているが、NKT 細胞の関与を明らかにしたのは、我々の報告が初めてであり (Yokote et al. *Am J Pathol* 2008)、今後のさらなる研究の展開が期待できる。

E. 結論

抗生物質投与による腸内細菌偏倚が、NKT 細胞を介して自己免疫病態の修飾につながる可能性が考えられる。自己免疫・アレルギー疾患の増加傾向を考える際に、重要な示唆を与える結果であり、治療薬開発の観点からも重要な意義がある。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Doi, Y., S. Oki, T. Ozawa, H. Hohjoh, S. Miyake, and T. Yamamura: Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 8381-8386, 2008

Satoh, J-i., T. Misawa, H. Tabunoki, and T. Yamamura: Molecular network analysis of T-cell transcriptome suggests aberrant regulation of gene expression by NF- κ B as a biomarker for relapse of multiple sclerosis. *Dis Markers* 25: 27-35, 2008

Shimamura, M., Y-Y. Huang, R. Migishima, M. Yokoyama, T. Saitoh, and T. Yamamura: Localization of NK1.1⁺ invariant V α 19 TCR⁺ cells in the liver with potential to promptly respond to TCR stimulation. *Immunol. Lett.* 121: 38-44, 2008

Yokote, H., S. Miyake, J.L. Croxford, S. Oki, H. Mizusawa, and T. Yamamura: NKT cell-dependent amelioration of a mouse model of multiple sclerosis by altering gut flora. *Am. J. Pathol.* 173: 1714-1723, 2008

Aranami, T. and T. Yamamura: Th17 cells and autoimmune encephalomyelitis (EAE/MS). *Allergol. Int.* 57 115-120, 2008

Okamoto, T., M. Ogawa, Y. Lin, M. Murata, S. Miyake, and T. Yamamura: Treatment of Neuromyelitis Optica: Current Debate. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders.* 1: 43-52, 2008

Araki, M., S. Miyake, and T. Yamamura: Synthetic glycolipid ligands for human iNKT cells as potential therapeutic agents for immunotherapy. *Curr. Medicinal. Chem.* 15: 2337-2345, 2008

2. 学会発表

Yokote H, Miyake S, Croxford J, Mizusawa H, Yamamura T: Alteration of gut flora ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in association with contraction of inflammatory Th17 cells. FOCiS 2008, Boston, June 6, 2008

Aranami T, Sato W, Yamamura T: Abnormally differentiated CD28 null TIM-3⁻ Th1 cells specifically respond to alpha B-crystalline. FOCiS 2008, Boston, June 7, 2008

Satoh J-i, Misawa T, Obayashi S, Tabunoki H, Yamamura T, Arima K, and Konno H: Gene expression profile of neuromyelitis optica brain lesions. 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.26, 2008

Aranami T, Sato W, and Yamamura T: Abnormally differentiated CD28 null TH1 cells specifically respond to aB-crystalline in multiple sclerosis. 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.26, 2008

Klemann C, Oki S, Klemann AK, Ozawa T, Doi Y, Shudo K, and Yamamura T: Synthetic retinoid AM80 ameliorates EAE by attenuating TH17-mediated inflammation. 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.29, 2008

Lin Y, Miyake S, and Yamamura T: The dominance of encephalitogenic peptide correlates to its ability to induce potent regulatory T cells. 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, 10.29, 2008

Yamamura T: Orphan nuclear receptor NR4A2 and inflammatory cascade of MS/EAE. Plenary Session. Effector Mechanisms, IXth International

Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Texas, USA, October 29, 2008

山村 隆: 特別講演 V. 免疫制御システムと神経免疫疾患. 第 20 回日本神経免疫学会, 新潟, 4.17, 2008

山村 隆: 免疫疾患としての多発性硬化症. シンポジウム SY-4-1「多発性硬化症の病態と治療: 臨床と基礎の最前線」第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5.16, 2008

山村 隆: 多発性硬化症の分子病態と治療標的. シンポジウム「疾患の病態と分子医学」日本臨床分子医学会, 神戸, 7.24, 2008

山村 隆: 多発性硬化症の病態解析から治療標的の同定へ. シンポジウム3「疾患の制御 - 臨床から免疫へ」, 日本臨床免疫学会, 東京, 10.18, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

自己免疫と MR1 拘束性 T 細胞に関する研究

研究分担者 三宅 幸子 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部室長

研究要旨

MR1 拘束性 T 細胞は、可変性の限られた T 細胞受容体(TCR)を有し、炎症病変に集積してサイトカインを産生する MHC クラス Ib 分子である MR1 拘束性のユニークなリンパ球である。昨年は、多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎が V α 19J α 33 TCR のトランスジェニック(Tg)マウスでは軽症で、V α 19J α 33T 細胞を欠く MR1^{-/-}では重症化することを示した。本年度は、MR1 拘束性細胞が他の自己免疫病態において制御性細胞として機能するかどうかを検討するために自己抗体惹起性の炎症である抗体誘導関節炎ならびにコラーゲン関節炎に与える影響を調べた。

A. 研究目的

MR1 拘束性 T 細胞は、可変性の限られた TCR を有し、MR1 拘束性のリンパ球である。これまでの研究で、多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎において、V α 19J α 33T 細胞は病態抑制に関与することを示した。本年度は、MR1 拘束性細胞が他の自己免疫病態において制御性細胞として機能するかどうかを検討する目的で、関節炎に与える影響を調べた。

B. 研究方法

コラーゲン関節炎 (Collagen-induced arthritis: CIA) は MR1⁺マウス(MR1⁺)を DBA/1J マウスに 6 回戻し交配を行ったマウスを使用した。CII を FCA と共に Day 0、21 に免疫し誘導し、抗体誘導関節炎は C57BL/6J(B6)マウスもしくは MR1^{-/-}マウスに抗 CII モノクローナル抗体カクテルを 2mg/mouse で静脈投与し二日後に LPS を腹腔内投与、もしくは K/BxN 血清 150 μ l/匹を

腹腔内投与して誘導した。関節炎は、臨床症状と病理所見にて評価を行った。CII に対するリコール反応、ならびに血清中の CIA 誘導後抗 CII 抗体を ELISA 法にて測定した。

C. 研究結果

CIA 発症率、最大スコアともに、野生型 DBA/1J マウスに比較して MR1⁺マウスで有意に高値であった。これは、同腹の野生型マウスを用いても同様の結果が得られた。病理所見でも、MR1⁺マウスでは、関節炎がより顕著であった。CII に対するリコール反応における IL-17 産生、血清中抗 CII 抗体価は B6 に比較して MR1⁺で低値であった。一方、CII カクテル抗体関節炎ならびに K/BxN 血清移入関節炎では MR1⁺マウスにおいてコントロール B6 マウスと比較して関節炎が抑制された。関節局所における炎症性サイトカインの発現も、MR1⁺マウスでは有意に低かった。

In vitro にて、V α 19iNKT 細胞をセルソーターを用いて分離し、各種サイトカイン存在

下で抗 CD3 抗体刺激によるサイトカイン産生を検討したところ、IL-1 共存下で IL-17 産生が増強した。

D. 考察

MR1 拘束性 V α 19i T 細胞は EAE に対して抑制的に働くが、コラーゲン関節炎ならびに抗体誘導関節炎の炎症増悪に関与する可能性が示唆された。関節炎では、IL-1 を初めとした炎症性サイトカインが大量に産生されていることから、強い炎症局所では V α 19i T 細胞は炎症の増悪因子として機能すると考えられた。

MR1 拘束性 T 細胞の生理的機能の解析や、多発性硬化症病態における役割については、この細胞を特定できる抗体が必須であり、その作製が待たれる。

E. 結論

MR1 拘束性細胞は関節炎モデルにおいては、病態抑制的に機能することが明らかとなった。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

I 論文発表

原著

- 1) Dondji B, Deak E, Goldsmith-Pestana K, Perez-Jimenez E, Esteban M, Miyake S, Yammaura T, McMahon-Pratt D: Intra-dermal NKT cell activation during DNA priming in heterologous prime-boost vaccination enhances T cell responses and protection against Leishmania. **Eur J Immunol**

38:706-19, 2008

- 2) Doi Y, Oki S, Ozawa T, Hohjoh H, Miyake S, Yamamura T: Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines. **Proc Natl Acad Sci USA** 105:8381-8386, 2008
- 3) Sekine C, Sugihara T, Miyake S, Hirai H, Yoshida M, Miyasaka N, Kohsaka H. Successful treatment of animal models of rheumatoid arthritis with small-molecule cyclin-dependent kinase inhibitors. **J Immunol** 180:1954-1961, 2008
- 4) Yokote H, Miyake S, Croxford JL, Oki S, Mizusawa H, Yamamura T. NKT cell-dependent amelioration of a mouse model of multiple sclerosis by altering gut flora. **Ame J Pathol** 173:1714-23, 2008
- 5) Theil MM, Miyake S, Croxford J, Mizuno M, Yokote H, Hosoda H, Schween J, von Horsten S, Chiba A, Lin Y, Oki S, Akamizu T, Kanagawa K, Yamamura T: Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by Ghrelin. **J Immunol**. (in press)

総説

- 1) Okamoto T, Ogawa M, Lin Y, Murata M, Miyake S, Yamamura T: Treatment of neuromyelitis optica: Current debate. **Therapeutic Advances Neurol** 1 (1):43-52, 2008
- 2) Araki M, Miyake S, Yamamura T: Synthetic glycolipid ligands for human iNKT cells as potential therapeutic agents for immunotherapy. **Curr Med**

Chem 15(23):2337-2345, 2008

3) 三宅幸子 : NKT 細胞と自己免疫. 医学のあゆみ 225:145-150, 2008

4) 三宅幸子 : 自己免疫病態とその制御. 日本臨床 66:1073-1079, 2008

II 学会発表

国際学会

- 1) Miyake S, Croxford JL, Yamamura T: The role of MR1-restricted V α 19i T cells in autoimmune disease models. Keystone symposia, Tolerance in Transplantation and autoimmunity, Colorado, January 29, 2008
- 2) Yokote H, Miyake S, Croxford JL, Mizusawa H, Yamamura T: Alteration of gut flora ameliorates the disease course of experimental autoimmune encephalomyelitis in association with contraction of inflammatory Th17 cells. 8th Annual Conference of FOCIS, Boston, June 5, 2008
- 3) Miyake S, Mizuno M, Kaieda S, Sakaguchi N, Sakaguchi S, Yamamura T: Activation of innate immunity breaks tolerance and induces autoimmune arthritis in genetically susceptible mice. American College of Rheumatology 71th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, November 13, 2006 (Arthritis Rheum. 58:S266, 2008)
- 4) Seta N, Komori A, Kimura N, Kaieda S, Okada Y, Miyake S, Kuwana : A role of bone marrow-derived monocyte lineage cells in antibody-

induced arthritis. American College of Rheumatology 71th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, November 13, 2006 (Arthritis Rheum. 58:S508, 2008)

国内学会

- 1) 林幼偉、三宅幸子、山村隆、: EAE の寛解維持を担う機能的 Treg は寛解期に誘導され、その誘導脳は脳炎惹起性ペプチドの末端配列に依存する. 第 20 回日本神経免疫学会、新潟、4 月 17 日、2008 (神経免疫学 15 巻 : p34, 2008)
- 2) 山村隆、林幼偉、横手裕明、三宅幸子 : 免疫制御システムと神経免疫疾患 : 第 20 回日本神経免疫学会、新潟、4 月 18 日、2008 (神経免疫学 15 巻 : p21, 2008)
- 3) 八子徹、田島良亮、海江田信二郎、大木伸司、三宅幸子 : MR1 拘束性 V α 19i T 細胞のコラーゲン誘導関節炎 (CIA) における機能解析. 第 52 回日本リウマチ学会、札幌、4 月 22 日、2008 (第 52 回日本リウマチ学会総会抄録集 p264)
- 4) 瀬田範行、海江田信二郎、岡田保典、三宅幸子、桑名正隆 : 関節炎モデルの病態形成における骨髄由来細胞の関与の検討. 第 52 回日本リウマチ学会、札幌、4 月 22 日、2008 (第 52 回日本リウマチ学会総会抄録集 p382)
- 5) 田島良亮、八子徹、海江田信二郎、三宅幸子 : MR1 拘束性 V α 19i T 細胞の抗体誘導関節炎における機能解析. 第 52 回日本リウマチ学会、札幌、4 月 21 日、2008 (第 52 回日本リウマチ学会総会抄録集 p384)

- 6) 三宅幸子、横手裕明、宮崎雄生、Croxford J. L., 山村隆：iNKT 細胞を介した腸内フローラ変化による実験的自己免疫性脳脊髄炎. 第36回日本臨床免疫学会、東京、10月17日、2008 (日本臨床免疫学会会誌 31 巻:292, 2008)
- 7) 宮崎雄生、三宅幸子、山村隆：ハプテン誘導性腸炎における mucosao associated invariant T細胞の役割. 第36回日本臨床免疫学会、東京、10月17日、2008 (日本臨床免疫学会会誌 31 巻:266, 2008)
- 8) 林幼偉、三宅幸子、山村隆：脳炎惹起性ペプチドの優位性が機能的な制御性T細胞の誘導・維持能を左右する. 第38回日本免疫学会、京都、12月1日、2008 (第38回日本免疫学会総会抄録集 p90)
- 9) 田島良亮、山村隆、宮崎雄生、市川大樹、三宅幸子、：MR1 拘束性 V α 19iT 細胞の抗体誘導関節炎における機能解析. 第38回日本免疫学会、京都、12月1日、2008 (第38回日本免疫学会総会抄録集 p91)
- 10) 宮崎雄生、田島良亮、市川大樹、八子徹、三宅幸子、山村隆：腸管免疫制御における mucosao associated invariant T細胞の役割. 第38回日本免疫学会、京都、12月1日、2008 (第38回日本免疫学会総会抄録集 p98)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

合成レチノイドによる Th17 細胞制御に関する研究

研究分担者 大木 伸司 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第六部（室長）

研究要旨

多発性硬化症（Multiple Sclerosis: MS）などの自己免疫疾患の発症には、極めて強力な炎症性サイトカインであるインターロイキン 17（IL-17）を主に産生する Th17 細胞が関与する。腸管組織に多く分布する Th17 細胞の炎症惹起能は *all-trans* レチノイン酸（ATRA）により制御できることが示され、自己免疫疾患の新規治療薬としてのレチノイドの応用は魅力的な研究対象である。今回、合成 RAR アゴニスト Am80 の経口投与により、Th17 細胞制御を介して MS のマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）が有意に軽症化することを明らかにした。Am80 投与により、抗原特異的 IL-17 産生および中枢神経浸潤 Th17 細胞の炎症惹起能は有意に抑制され、中枢神経系への細胞浸潤および脱髄は著しく改善した。さらに Am80 は、EAE 発症後の治療的経口投与においても顕著な病態抑制効果を示したことから、Am80 が新規自己免疫疾患治療薬候補となりうる可能性が示された。

A. 研究目的

極めて強力な炎症性サイトカインであるインターロイキン 17（IL-17）を主に産生し、MS をはじめとする種々の自己免疫疾患の発症に関与する Th17 細胞は、腸管免疫を司る T 細胞の一種である。腸管上皮細胞や抗原提示細胞が産生する ATRA が、Th17 細胞機能を制御することが示され、レチノイドを用いた新規自己免疫疾患治療法の可能性が注目されている。今回、すでに急性前骨髄球性白血病（APL）の治療薬として臨床応用されている合成レチノイド Am80 を用いて、Th17 細胞機能を介した EAE 抑制作用について研究を進めた。

B. 研究方法

C57BL/6J (B6) マウス脾臓由来 T 細胞を、IL-6/TGF- β あるいは IL-23 存在下に抗 CD3 抗体にて刺激培養し、Th17 細胞分化を誘導した。培養系に合成レチノイド Am80 を最終濃度 1~1000nM となるように添加し、培養上清中の IL-17 濃度、および Th17 細胞特異的転写因子 ROR γ t と制御性 T (Treg) 細胞特異的転写因子 Foxp3 の発現レベルを比較した。B6 マウスに MOG₃₅₋₅₅ ペプチドを免疫して実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を誘導した。免疫時（day0）あるいは発症後（~day13）より Am80 の経口投与（3 mg/kg；隔日）を行い、EAE 発症抑制効果および治療効果を臨床スコアおよび病理組織学的検討により比較した。EAE マウス（day15 あるいは day25）より摘出した中枢神経組織より浸潤 T 細胞を分離し、再試験後のサイトカイン産生及び T 細胞機能マーカー発現を比較検討した。MOG₃₅₋₅₅ ペプチド免疫 10 日後のマウス所属リンパ節より細胞を分離し、MOG ペプチドに対する抗原特異的応答を、Am80 投与群と非投与群の間で比較した。各種サイトカイン産

生は、ELISA 法あるいは FACS を用いた細胞内染色法により定量し、転写因子などの遺伝子発現は定量 RT-PCR 法あるいは FACS を用いた細胞内染色法を用いて定量した。病理組織は HE 染色および LFB 染色を行い、浸潤細胞の有無および脱髄の程度を比較した。

（倫理面への配慮）

動物実験に関しては、当研究所の動物実験規定に従い、実験計画書の承認を受けて行った。

C. 研究結果

IL-6/TGF- β あるいは IL-23 存在下に刺激した T 細胞からの IL-17 産生は、低濃度（~1 nM）の Am80 存在下で顕著に抑制され、比較対象として添加した ATRA に比べて 10 倍程度高い力価を示した。この時 Th17 細胞マーカー ROR γ t の発現は、Am80 の濃度依存的に抑制され、制御性 T 細胞マーカー FoxP3 の発現が相対的に増加した。これらの転写因子の発現変動に関しても、Am80 は ATRA より低濃度で作用が確認された。免疫時（day0）からの Am80 の経口投与により EAE の発症は有意に抑制され、EAE 発症後（day13）の投与でも有意な治療効果を示した。EAE 発症個体から摘出した中枢神経組織より分離した浸潤 T 細胞の IL-17 産生は、Am80 投与群において非投与群より低値を示した。EAE マウス（day15）の病理組織の検討においても、Am80 投与群では中枢神経への浸潤細胞数の低下にともない、脱髄のレベルも軽度であった。MOG₃₅₋₅₅ ペプチド免疫後の所属リンパ節より分離した細胞の抗原特異的サイトカイン産生を比較したところ、IL-17 産生のみならず

TNF- α およびIFN- γ の産生もAm80投与群で有意に抑制された。一方、EAE発症後期(day25)になると、Am80投与群において引き続き顕著なIL-17産生の低下を認めるにもかかわらず、臨床スコアの穏やかな促進傾向と、病理学的な軽度の炎症反応が認められた。Am80の投与により浸潤T細胞のIL-17産生のみならず、炎症応答抑制性サイトカインであるIL-10の産生も有意に減少しており、EAEの穏やかな促進傾向との相関を認めた。ROR γ tおよびFoxp3の細胞内染色により浸潤T細胞中のIL-10産生細胞の同定を試みたところ、ROR γ t/Foxp3両陽性の細胞群に高いIL-10産生能を認めた。さらにAm80投与群の中樞神経浸潤細胞中では、ROR γ t/Foxp3両陽性の細胞群が有意に減少しており、Am80投与によるIL-10産生低下を反映しているものと考えられた。

D. 考察

MSをはじめとする種々の自己免疫疾患の発症には、極めて強力な炎症性サイトカインであるインターロイキン17(IL-17)を主に産生するTh17細胞が関与する。近年、腸管組織に多く分布するTh17細胞の炎症惹起能はall-transレチノイン酸(ATRA)により抑制できることが明らかとなり、自己免疫疾患の新規治療薬としてのレチノイドの応用は極めて魅力的な研究対象である。レチノイン酸は生体内において、細胞の増殖、分化から生体の恒常性維持および形態形成に関わる重要な生体内ホルモンの一種である。APL治療薬として臨床上用いられているATRAを考えた場合、十分な効果を得るために必要な投与量が比較的高いことから、生体内ホルモン作用によりさまざまな生体応答を惹起するため、催奇形性の不安、皮膚炎症状、口唇炎、血中脂質の上昇などの副作用がしばしば問題とされ、その応用の可能性を狭めている。また医薬品として考えた場合、ATRAにはレチノイド受容体(RAR)サブクラスに対する選択性がほとんどないこと、脂溶性が高いため脂肪組織に長時間とどまること、一方で、短時間のうちに血中濃度が低下することなどが、医薬品としての作用の選択性をなくし、副作用の問題を大きくしている。そこで、多くの合成レチノイドが新規に開発され、受容体サブタイプ選択性と良好な体内動態を有する化合物の選別を図ることで、望ましい薬効を維持しつつ副作用を持たない治療薬が探索されてきている。今回、このような新規合成レチノイドの中から、APLの治療薬としてすでに臨床応用されている合成レチノイドAm80(タミバロテン)を用いて、Th17細胞機能を介したEAE抑制作用について研究を進めた。Th17細胞の炎症惹起能は、ATRAを用いた既報と同様、Am80を用いても有意に抑制されることが明らかとなった。特にin vitroでのTh17細胞からのIL-17産生に対するAm80の作用は、ATRAと比較して10倍あるいはそれ以上の高い力価を示しており、既報のATRAを用いた

EAEの抑制には、高用量(450 μ g/injection;隔日)を腹腔内投与が必要なものに対し、Am80はより低用量(60 μ g/injection;隔日)の経口投与で有意な抑制効果が得られることに反映されているものと思われる。さらにAm80のEAE抑制効果は、EAE発症後の治療的投与プロトコールにおいても認められた。前述のようにAm80は、一般名タミバロテンとしてAPLの治療目的ですでに臨床応用されていることを考え合わせると、治療薬としての適用拡大を図ることで自己免疫疾患治療薬としての応用が可能になることが予想される。今回の結果は、Th17細胞機能制御を介した作用メカニズムに基づく全く新しい治療戦略の可能性を開くものと考えられる。

E. 結論

APL治療薬として臨床応用されている合成レチノイドAm80は、Th17細胞機能制御能を示すとともに、顕著なEAE抑制作用を示した。MSをはじめとする様々な自己免疫疾患の病態形成においてTh17細胞の関与が指摘されており、Th17細胞制御を介した新規自己免疫疾患治療法の開発が切望されているが、本研究によりAm80がIL-17産生抑制と病理性Th17細胞機能抑制を介して、これらの自己免疫疾患の治療薬として適用できる可能性が示された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines
Yoshimitsu Doi, Shinji Oki, Tomoko Ozawa, Hirohiko Hohjoh, Sachiko Miyake, and Takashi Yamamura
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **105**, 8381-8386 (2008)
- 2) NKT cell-dependent amelioration of a mouse model of multiple sclerosis by altering gut flora
Hiroaki Yokote, Sachiko Miyake, J. Ludovic Croxford, Shinji Oki, Hidehiro Mizusawa, and Takashi Yamamura
Am. J. Pathol. **173**, 1714-1723 (2008)
- 3) Synthetic retinoid AMS0 inhibits Th17 cells and ameliorates EAE
Christian Klemann, Benjamin JE Raveney, Anna K Klemann, Tomoko Ozawa, Stephan von Hörsten, Koichi Shudo, Shinji Oki, Takashi Yamamura
Submitted

2. 学会発表

[国際学会]

1) **Shinji Oki**, Yoshimitsu Doi, Tomoko Ozawa, Sachiko Miyake, Takashi Yamamura: Functional involvement of NR4A2 in the pathogenesis of inflammatory demyelinating disease.

Keystone Symposia 2008: Nuclear Receptors: Orphan Brothers (Z1), Whistler CA, Apr. 1st, 2008

2) Christian Klemann, **Shinji Oki**, Anna K Klemann, Tomoko Ozawa, Yoshimitsu Doi, Koichi Shudo, Takashi Yamamura: Synthetic Retinoid Am80 ameliorates EAE by attenuating Th17-mediated inflammation

The 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Oct. 26th, 2008

[国内学会]

1) **Shinji Oki**, Yoshimitsu Doi, Benjamin JE Raveney, Tomoko Ozawa, Hirohiko Hohjoh, Sachiko Miyake, Takashi Yamamura: Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines (シンポジウム S8 招待講演)

第 38 回日本免疫学会総会・学術集会 (京都) 2008 年 12 月 1 日

2) Christian Klemann, **Shinji Oki**, Tomoko Ozawa, Yoshimitsu Doi, & Takashi Yamamura: Alteration of Th17 differentiation by retinoic acid signals ameliorate EAE development

第 20 回日本神経免疫学会学術集会 (新潟) 2008 年 4 月 17 日

3) 八子 徹、田島良亮、海江田信二郎、**大木伸司**、三宅幸子 MR1 拘束性 V α 19iT 細胞のコラーゲン誘導関節炎 (CIA) における機能解析

第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会・第 17 回国際リウマチシンポジウム 2008 年 4 月 20 日

4) Christian Klemann, **Shinji Oki**, Anna K Klemann, Benjamin JE Raveney, Tomoko Ozawa, Koichi Shudo, Takashi Yamamura: Synthetic retinoid Am80 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) by attenuating Th17-mediated inflammation

第 36 回日本臨床免疫学会総会 (東京) 2008 年 10 月 17 日

5) **大木伸司**, Christian Klemann, Benjamin JE Raveney, Anna K Klemann, 小澤智子, 首藤絃一, 山村隆: 合成レチノイド Am80 の Th17 細胞分化制御を介した自己免疫応答抑制効果について

第 19 回日本レチノイド研究会 (東京) 2008 年 11 月 21 日

6) Christian Klemann, **Shinji Oki**, Benjamin J.E. Raveney, Takashi Yamamura: Synthetic Retinoid Am80 ameliorates EAE by attenuating Th17-mediated inflammation

第 38 回日本免疫学会総会・学術集会 (京都) 2008 年 12 月 1 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

分担研究報告書

「Invariant V α 19 TCR 発現細胞の機能を介した自己免疫性
神経疾患治療のための基礎研究」

研究分担者 島村道夫 三菱化学生命科学研究所 発生免疫研究ユニットリーダー

研究要旨

多発性硬化症モデルとなる EAE の進行は invariant V α 19-J α 33 TCR α 発現 NKT 細胞 (V α 19 NKT 細胞) が過剰発生する TCR α 遺伝子導入 (Tg) マウスでは抑制されたことから V α 19 NKT 細胞には炎症性自己免疫性神経疾患の制御機能が期待される。この細胞機能に基礎をおく疾患治療法開発を目的として、V α 19NKT 細胞の抗原刺激に応答したサイトカイン分泌能、免疫系のホメオスタシス機能について引き続き検討した。V α 19 TCR Tg マウスから調製した V α 19NKT 細胞は培養中で固相化抗 CD3 抗体の濃度を段階的に変化させ TCR への刺激の強さを調節すると、ある一定の刺激範囲では Th2 サイトカインの産生が優先することが示唆されていた。今回さらに invariant V α 14-J α 18 TCR 発現 NKT 細胞 (V α 14NKT 細胞) 及び両 NKT 細胞が発生しない β 2m^{-/-} マウス細胞の免疫応答と比較しつつ詳細に検討を加えた。その結果 V α 19, V α 14NKT 細胞ともにまず TCR 刺激に対する即時的応答により免疫調節サイトカインの分泌が観察され、ここで刺激の強度に依らず IFN- γ に対する IL-4 優位の分泌が明らかになった。一方継続的刺激による遅い免疫応答では一定以下の強度の刺激における IL-4, IL-5, IL-10 の IFN- γ に対する優先的分泌が V α 19NKT 細胞において特に顕著に見られた。このような比較的弱い疑似刺激に相当する刺激を V α 19NKT 細胞に与える抗原を生理的環境から見出すことにより Th2 優位の免疫応答の誘導が可能となる。これまでに V α 19NKT 細胞の抗原として非還元末端に α -Man 基を持つ糖脂質の可能性を示唆してきたが、新規の化合物を含め現在までに得られた物質の活性の比較を行なった。その結果 V α 19 NKT 細胞の IFN- γ に対する IL-4 の産生を優先して誘導する物質として *Saccharopolyspora* 由来の α -Man 化糖脂質が見出された。

A. 研究目的

V α 19 NKT 細胞は TCR への刺激に応答して即時的に免疫系調節機能を持つ IL-4, IL-10, IFN- γ , IL-17 などのサイトカインを分泌することが Tg マウスから精製した細胞の刺激実験から明らかにされている。また

これが引き金となり 2 次応答として周囲の細胞のサイトカイン分泌を誘導する。このことから V α 19NKT 細胞の免疫系調節機能が期待された。実際この細胞が過剰発生する invariant V α 19-J α 33 TCR α 鎖遺伝子導入 (V α 19 Tg) マウスでは多発性硬化症