

尿病患者から分離したコクサッキーウイルスが実験動物の糖尿病を発症したとする報告は稀である。ケトアシドーシスで死亡した小児から分離されたコクサッキーB4ウイルスバリエントが、SJL/Jマウスで糖尿病を誘発したとされている。

最近、劇症のコクサッキーウイルス感染で死亡した新生児の膵島細胞にエンテロウイルス抗原が出現していること、外分泌細胞にはウイルス抗原は認められないこと、さらに、ヒト培養膵島細胞にエンテロウイルスの受容体として機能するポリオウイルスレセプターや、インテグリン $\alpha V\beta_3$ が発現していることが示されている。このことから、コクサッキーウイルスがヒト膵島細胞に比較的選択的に感染しようと考えられる。ただしヒトコクサッキーウイルスアデノウイルスレセプター(CAR)と1型糖尿病感受性との関連の報告はなく、ウイルスレセプターがヒト1型糖尿病の感受性、発症制御に関与しているかどうかは不明である。このように多くの臨床的な知見の蓄積にもかかわらず、エンテロウイルス感染による1型糖尿病発症メカニズムの全貌は解明されていない。

III. 実験的ウイルス糖尿病の発症機構

1. ウイルスおよび宿主の糖尿病誘発性の遺伝的決定因子

コクサッキーB4ウイルスは感受性の実験動物に糖尿病を誘発するわけではないが、感受性マウス(SJL/J)のマウス膵島細胞で継代を続けることで糖尿病誘発性を獲得することが知られている。一方、糖尿病誘発性マウス脳心筋炎(EMC)ウイルスのM variantをさらにクローニングし、特定のマウス系統に糖尿病誘発性の高いEMC-Dウイルスと、誘発しないEMC-Bが分離された⁹⁾。マウスの系統としては、SJL/J、DBA/2が感受性で、Balb/C、NODが中等度、C57BL/6は抵抗性である。このマウスの感受性には性差もあり、糖尿病発症の感受性は、オスのほうが高く、膵島細胞の障害が著しい。マウスの系統依存性の感受性の差については、単一の遺伝子であると報告されてい

るが、感受性を決定する遺伝子は同定されていない。

なお、ウイルス糖尿病高誘発性のEMC-Dウイルスと、誘発しないEMC-Bウイルスの遺伝子配列研究により、それぞれの株間は14核酸の違いしかないことが示された¹⁰⁾。さらに、遺伝子改変ウイルスを用いた検討により、誘発性を決定しているのは、ウイルスカプシド(VP1)の776番目のアミノ酸がアラニンであること(Thr776Ala)が重要であることが明らかとなった¹¹⁾。この部位はウイルスの膵島細胞への接着に重要であることから、ウイルスとウイルスレセプターの関係が、少なくとも一部は、ウイルス糖尿病の誘発を制御していると考えられる。

一方、エンテロウイルス感染症の病態について、ポリオウイルス研究が進展し、ポリオウイルスの組織特異的神経細胞障害メカニズムが解明された。すなわち、ウイルスレセプターの発現、ウイルス蛋白質の翻訳開始機構(Internal Ribosome Entry Site; IRES)による組織選択的翻訳活性、神経細胞におけるインターフェロン誘導能の低さによるウイルス感受性亢進の機序で、その発症機構の概要が説明できる¹²⁾。

しかしながら、エンテロウイルスは、神経皮方向性とされるコクサッキーA群ウイルス、臓器障害をきたすコクサッキーB群ウイルス、また、エンテロウイルス70は出血性結膜炎をきたすなど、その臨床像は多彩であり、それぞれの発症メカニズムはさらに多様であることが推測される。

2. 実験的ウイルス糖尿病発症の制御機構

ウイルス糖尿病については、既述のようにEMCウイルスを用いた研究が最も広く行われている。感受性のSJL/Jマウスでは、オスでは急激に糖尿病を発症し、死に至るが、メスではいったん糖尿病を発症するもののその後は回復する。また、比較的大量(10^5 PFU/mouse)のウイルス量の投与では、3日以内の早期に発症するのに対し、少量($<10^2$ PFU/mouse)のウイルス投与では、マクロファージの活性化が膵島細胞障害に働くことが知られている。一方、われわれは、マクロファ

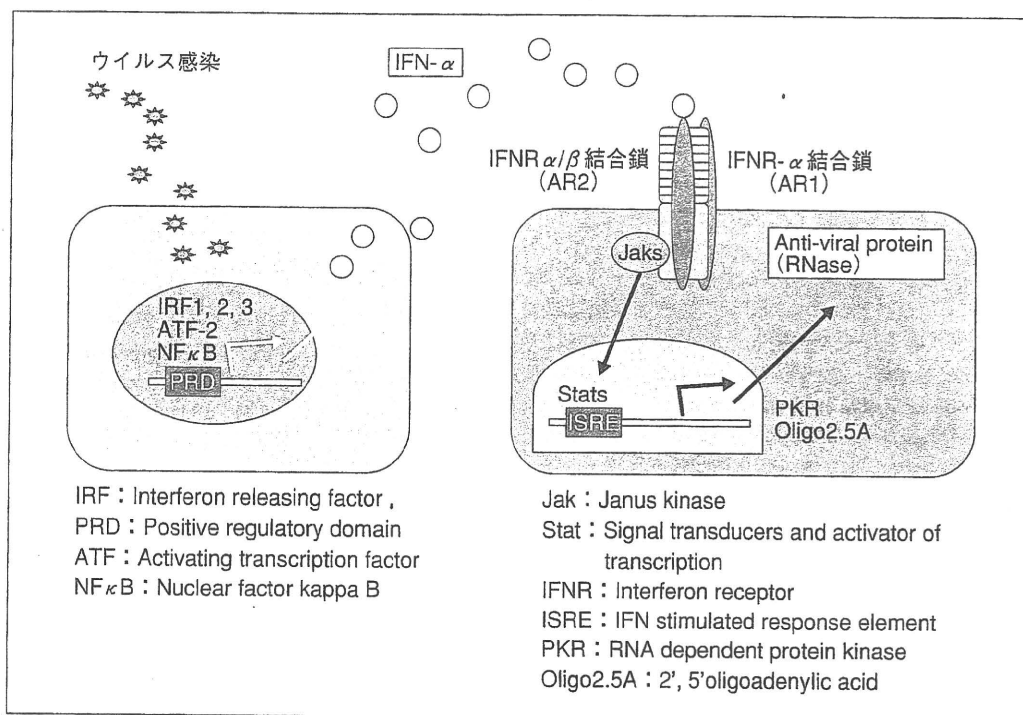


図2 ウイルス感染によるインターフェロン(IFN)の産生誘導とインターフェロンによる抗ウイルス作用の発揮

ージ賦活剤である *Corynebacterium parvum* を前投与することにより、ウイルス糖尿病発症を完全に阻止できることを明らかにした。T細胞欠損マウス、B細胞欠損マウス、T細胞もB細胞も欠損するRag-1ノックアウトマウスいずれも糖尿病発症に影響なく、また、中和抗体の投与は感染後36時間以内の早期移入した場合のみで有効であるので、インターフェロン(図2)やマクロファージの活性化など、自然免疫の働きがその防御に重要であると考えている¹³⁾。

興味深いことに、トランスジェニックマウスを用いた研究で、膵島細胞特異的にサイトカイン抑制分子を発現したマウスではウイルス増殖が促進され、NK細胞による膵島細胞障害が進行し、糖尿病に対する感受性が亢進することが示された¹⁴⁾。すなわち、膵島細胞におけるサイトカイン防御反応が重要であることが示唆されたが、果たして自然感染でもこのメカニズムが働いているのか、さらに検討が必要であろう。

おわりに

さまざまな臨床的知見、実験研究の成果から、エンテロウイルス感染がヒトにおける糖尿病の発症に関わっていることが強く示唆されている。しかしながら、ウイルス側の要因、宿主側の感受性因子についての決定的な証拠は乏しい。ウイルス感染による糖尿病として発症するかどうかの要因として、ウイルスの臓器親和性、感染のレベル(重症度)、宿主の自然免疫、獲得免疫の質と速度、応答のレベル、さらには膵島細胞の障害感受性など、多くの要素が関与すると考えられ、高度に複雑な発症機構であることが推測される。

現時点では、ウイルスが糖尿病発症の原因であることを証明するために必要なウイルスの糖尿病誘発性を検定できるシステムがないことが問題であると考え、一方、ウイルスの病原性検定システムの開発には、宿主要因の解明が進まなければならない。ウイルス感染症による膵島障害と糖尿

病発症メカニズムの全貌を明らかにするためには、ウイルスと宿主要因いずれをも明らかにするための総合的なアプローチが必要である。感染症専門家におかれては、ウイルス感染症と糖尿病発症が関連していることが疑われる場合には、病因の候補となるウイルスを分離し、保存することにより、将来の当該ウイルスの糖尿病誘発性検定に備える努力をお願いしたい。

参考文献

- 1) Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G : Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature* 2010 ; 464 : 1293~1300.
- 2) 永淵正法, 大澤 進, 和泉賢一, 小川秀一郎, 栗崎宏憲, 高上悦志 : 1型糖尿病の成因③環境因子. *Diabetes Frontier* 2008 ; 19(2) : 180~184.
- 3) Jenson AB, Rosenberg HS, Notkins AL : Pancreatic islet-cell damage in children with fatal viral infections. *Lancet* 1980 ; 2 : 354~358.
- 4) 永淵正法, 近藤しおり : 自己免疫性1型糖尿病とウイルス感染. *Diabetes Frontier* 印刷中.
- 5) 楠原浩一 : 先天性風疹症候群と糖尿病. *月刊糖尿病* 2009 ; 1(7) : 116~124.
- 6) Filippi CM, Estes EA, Oldham JE, von Herrath MG : Immunoregulatory mechanisms triggered by viral infections protect from type 1 diabetes in mice. *J Clin Invest* 2009 ; 119 : 1515~1523.
- 7) Nagafuchi S, Katsuta H, Anzai K : Rituximab, B-lymphocyte depletion, and Beta-cell function. *N Engl J Med* 2010 ; 362 : 761.
- 8) 永淵正法, 小川秀一郎, 栗崎宏憲 : エンテロウイルス感染症と臓器障害のメカニズム—脾臓障害と糖尿病誘発—. *臨床とウイルス* 2007 ; 35 : 146~151.
- 9) Yoon JW, McClintock PR, Onodera T, Notkins AL : Virus-induced diabetes mellitus. XVIII. Inhibition by a nondiabetogenic variant of encephalomyocarditis virus. *J Exp Med* 1980 ; 152 : 878~892.
- 10) Bae YS, Eun HM, Yoon JW : Genomic differences between the diabetogenic and non-diabetogenic variants of encephalomyocarditis virus. *Virology* 1989 ; 170 : 282~287.
- 11) Bae YS, Yoon JW : Determination of diabetogenicity attributable to a single amino acid, Ala-776, on the polyprotein of encephalomyocarditis virus. *Diabetes* 1993 ; 42 : 435~443.
- 12) Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Yoshikawa T, et al : The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J Virol* 2005 ; 79 : 4460~4469.
- 13) Kounoue E, Izumi K, Ogawa S, et al : The significance of T cells, B cells, antibodies and macrophages against encephalomyocarditis (EMC)-D virus-induced diabetes in mice. *Arch Virol* 2008 ; 153 : 1223~1231.
- 14) Flodström M, Maday A, Balakrishna D, et al : Target cell defense prevents the development of diabetes after viral infection. *Nat Immunol* 2002 ; 3 : 373~382.

特集 糖尿病と感染症

II 感染症と1型糖尿病

自己免疫性1型糖尿病とウイルス感染

永淵 正法 *Seiho Nagafuchi* (九州大学大学院医学研究院保健学部門病態情報学教授)

近藤しおり *Shiori Kondo* (松山赤十字病院内科第二部長)

● key words 1型糖尿病/ウイルス/インターフェロン/AIRE/Treg/Bリンパ球

はじめに

ウイルス感染症が糖尿病の発症要因の1つと考えられているが、その多くは、重症のウイルス感染症に伴う全身臓器障害の臍病変として顕在化するβ細胞障害、あるいは前稿の小林らが述べている、急性ウイルス感染に伴う劇症1型糖尿病のような、急性の臍島細胞障害が原因であると考えられる。そのメカニズムは、①ウイルスによる直接障害、②ウイルス感染細胞に対する特異的あるいは非特異的免疫機序による障害、③惹起された炎症細胞が放出する細胞障害性物質による障害、などがあげられる(図1)¹⁾。さらに、④ウイルス感染を契機として臍島β細胞特異的自己免疫が誘導されることもあり得る(図2)¹⁾²⁾。しかしながら、一部の動物実験を除けば、ウイルス感染を契機として自己免疫が誘導される証拠は乏しく、臨床的には、C型肝炎の治療にインターフェロンを投与した症例に発症した1型糖尿病症例に限られる³⁾。事実、従来、ウイルス感染による1型糖尿病の典型例であると考えられていた先天性風疹児の知見では、必ずしも臍島特異的自己抗体が産生されているわけではない⁴⁾。

他方、ウイルス感染が、むしろ、自己免疫糖尿病の発症を抑制するとの報告もあり⁵⁾⁶⁾、ウイルス感染と自己免疫糖尿病発症の関連は複雑である。今回は、ウイルス感染による自己免疫糖尿病の誘導、あるいは抑制のメカニズムについて、最近、急速に進歩している免疫学に基づいて概説し、また、基礎的研究成果、あるいは臨床的知見を紹介し、ウイルス感染と自己免疫糖

尿病の関連を考察してみたい。

I. ウイルス感染による自己免疫糖尿病誘発あるいは抑制メカニズム

ウイルス感染が契機となって特異的自己免疫が誘導されるメカニズムにはさまざまな要因がありうる。列举すると、①自己抗原とウイルス抗原の分子相同性、②隠蔽されている自己抗原の表出誘導、③自己免疫応答制御機構の破綻、④パターン認識レセプターを介する非特異的免疫の活性化に引き続く特異的自己免疫の誘導、⑤宿主の感受性(HLAタイプ)、などである。実際には、このようなリスク要因が複合的に働いて、自己免疫反応の誘導をもたらすのではないかと考えられる。

1 特異的自己免疫応答の活性化

1) ウイルスと臍島細胞抗原の分子相同性

自己抗原とウイルス抗原の分子相同性について、たとえば、強直性脊椎炎では、細菌である *Klebsiella* と自己抗原が交差し、宿主のHLA-B27の抗原提示の特性と相まって、その発症に関わることはよく知られているが、ウイルス抗原と臍島細胞抗原が交差することによる臍島細胞障害の証拠は乏しい。

一方、ウイルス感染細胞は、偏性細胞内寄生体であるため、その増殖に宿主の複製機能を必要とする。その過程で、初期の核酸合成酵素などの早期抗原(Early Antigen)は細胞表面に表出され、通常ウイルス特異的であるため、ウイルス抗原特異的細

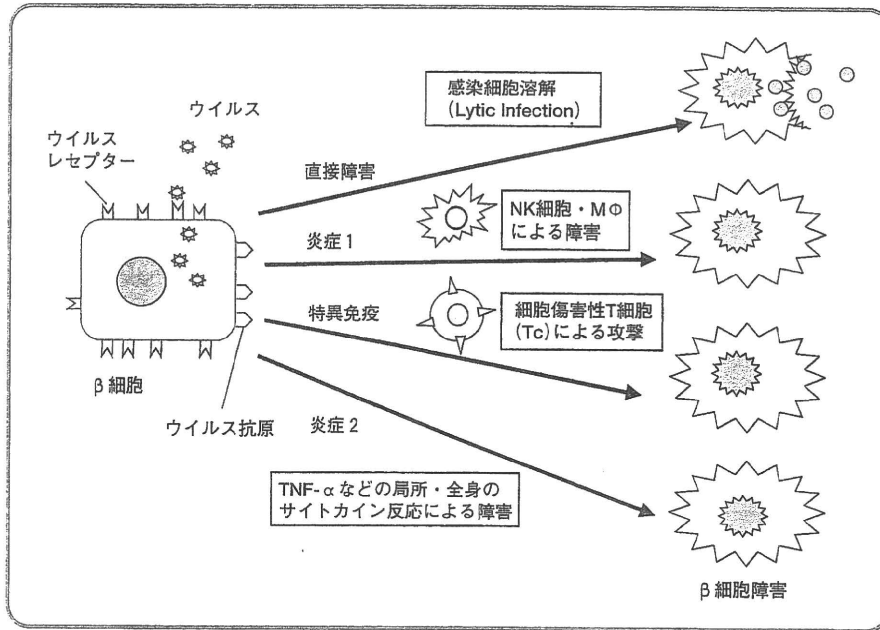


図1. ウイルス感染によるβ細胞障害メカニズム

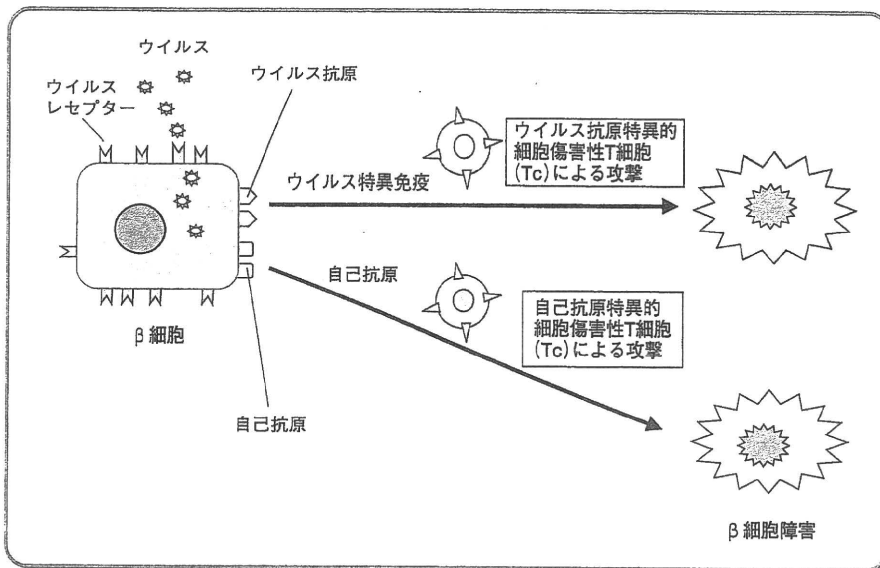


図2. ウイルス感染細胞に対するウイルス特異的あるいは自己抗原特異的細胞傷害性T細胞の誘導

胞傷害性T細胞の標的となり、ウイルス感染細胞を障害排除する。その結果、成熟ウイルス粒子の完成前に感染細胞機能が障害され、ウイルス増殖が抑制される。このことは、ウイルス抗原に対する免疫応答であるが結果として自己細胞の障害に働く

ため、一面、自己免疫応答と類似する臨床像を呈しうる(図2)。たとえば、持続的感染をきたす代表疾患である肝炎ウイルスによるウイルス性肝炎、あるいは自己免疫性肝炎も肝細胞を障害することでは同一の臨床像を呈し、その鑑別は困難である。脾

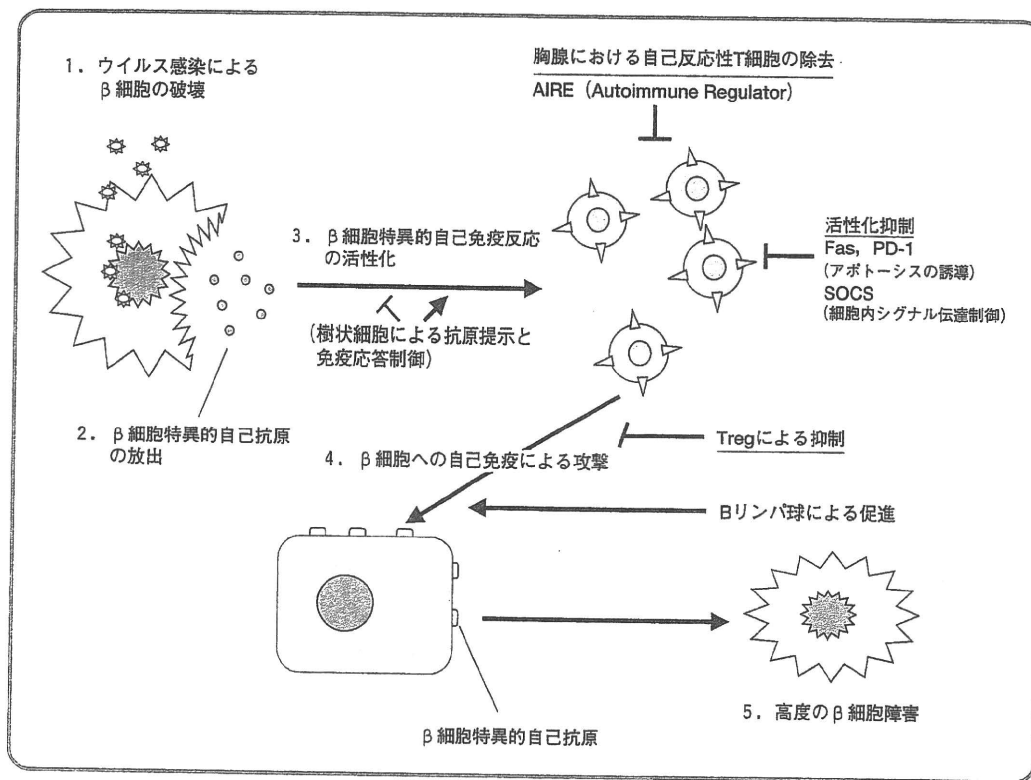


図3. ウイルス感染による自己免疫の誘導とその制御機構

高感染細胞に対する免疫応答にも同様のことが生じる可能性がある。慢性ウイルス感染としては、サイトメガロウイルス再活性化と免疫的膵島細胞障害はその良いモデルであると考えられる⁷⁾。

2) 自己抗原の遊離とその認識

前述したようにウイルス感染細胞の障害により隠蔽されている自己抗原の表出誘導や自己抗原の遊出は、その後の自己反応性の惹起に働くことは容易に考えられる。そもそも自己反応性T細胞、あるいはB細胞は、生体に少数であるが存在していることはよく知られているので、ウイルス感染細胞障害による自己抗原の提示により、このような非活性化状態の自己免疫反応が、より強く、かつ継続して活性化されることは十分にありうる。ただし、その場合、自己免疫応答制御機構の障害、あるいは破綻が伴って、はじめて自己免疫糖尿病の発症につながるのであろう。

3) 自己免疫応答制御機構の破綻

自己反応性は、さまざまなメカニズムで制御されている。最近の免疫学のトピックとして、中枢性の自己免疫反応性T細胞の除去に働く自己免疫調節遺伝子AIREの同定と、末梢にお

る自己反応性を制御するFoxp3⁺CD25⁺CD4⁺調節性T細胞(Treg)の発見は、この分野に目覚ましい進歩をもたらした。それぞれ、慶應義塾大学 清水信義教授、京都大学 坂口志文教授のすばらしい先駆的研究であり、世界に誇るべき成果である⁸⁾⁹⁾。AIRE欠損でもたらされる臓器特異的の自己免疫の標的臓器は、一般に、副腎、副甲状腺が中心であるが、HLAタイプが1型糖尿病感受性であれば、1型糖尿病を合併し、1型糖尿病抵抗性では、むしろ典型的なアジソン病と副甲状腺機能低下の臨床像を呈する¹⁰⁾。一方、Tregの欠損では、むしろ1型糖尿病は主徴の1つである⁹⁾。このことは、Tregによる末梢性の免疫応答調節が、自己免疫糖尿病発症制御に、より重要であることを示唆していると考えられる。

前述のウイルス感染に伴いβ細胞が破壊され少数の自己反応性T細胞が活性化されても、制御性T細胞による反応抑制以前に、活性化T細胞応答は、いくつかの活性化後制御メカニズムにより、その過剰な反応は抑制されている。T細胞の活性化後のアポトーシス誘導に働く分子としては、既知のFasに加えてprogrammed cell death-1 (PD-1) 抗原の重要性が強調されている(図3)。また、細胞内シグナル伝達制御に関しては、suppressor of

cytokine signaling (SOCS) などの分子が同定され、将来の治療への応用も期待されている¹¹⁾。さらに最近、臨床的に1型糖尿病の発症早期にB細胞除去療法が有用であることが示され¹²⁾、われわれが過去に報告した実験研究とともに、B細胞による免疫応答調節の意義も注目されつつある¹³⁾⁻¹⁵⁾ (図3)。

4) ウイルスによる自然免疫応答の活性化を介する自己免疫応答の誘導

従来、病原体から生体を守るシステムとしては、非特異的な病原体の取り込みと処理、インターフェロンの誘導などを自然免疫とし(図4)、特異的な免疫応答を獲得免疫として捉えていた(図5)。

一方、近年の自然免疫に関する進歩は、病原体をパターンで判読するメカニズムの存在を明らかとしてきた。すなわち、それぞれの病原体について、進化の過程で保存されている pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) を対象として認識する宿主の防御システムが存在している。その認識は、パターン認識レセプター (pattern recognition receptors : PRRs) が行い、免疫シグナルを伝達することにより病原体に対抗する免疫応答の重要な位置を占めていることが明示されている。PRRs には、Toll-like receptors (TLRs), C-type lectins, RNA helicase RIG-I-like receptors (RLRs), nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors (NLRs), cytosolic DNA sensor などが知られている (図6)¹⁶⁾。

自然免疫が1型糖尿病発症に関与する最も良い臨床的な証拠は、C型肝炎治療のためのインターフェロン投与によって惹起

される自己免疫糖尿病発症例が蓄積されていることである³⁾。そのメカニズムの詳細は不明であるが、インターフェロンによって、組織適合性抗原の発現が上昇することによる宿主の標的抗原認識と細胞傷害性T細胞の活性化などが、ホストの感受性要因などと相まって、膵島特異的自己免疫が誘導されると推測されている。また、実験的にも、糖尿病抵抗性のBBRラットは、Kilham rat virus 感染後、後述の病原体パターン認識機構であるToll-like receptor (TLR) 9シグナルを介する自己免疫の誘導により、自己免疫糖尿病を発症する¹⁷⁾。最近、自然免疫に関するPPR

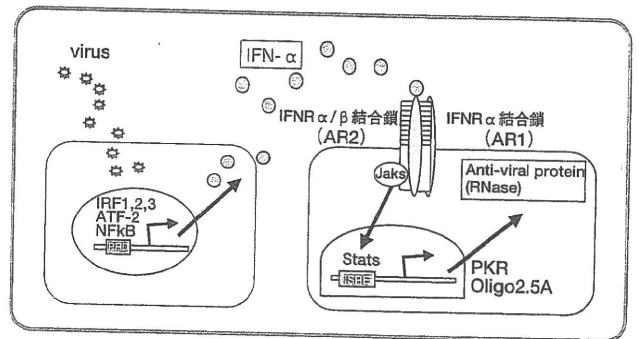


図4. 自然免疫(ウイルス感染によるインターフェロンの産生誘導と抗ウイルス作用の発揮)

IRF : Interferon Releasing Factor, PRD : positive regulatory domain, JAK : Janus kinase, Stat : Signal transducers and activator of transcription, IFNR : Interferon receptor, ISRE : IFN simulated response element, PKR : RNA dependent protein kinase, Oligo2.5A : 2', 5' oligoadenylic acid

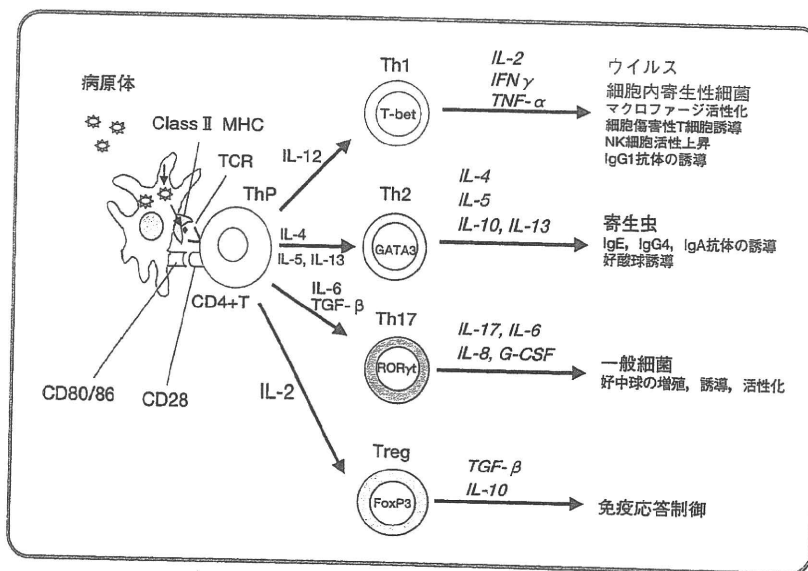


図5. 生体防御システムとしての獲得免疫の種類とその調節

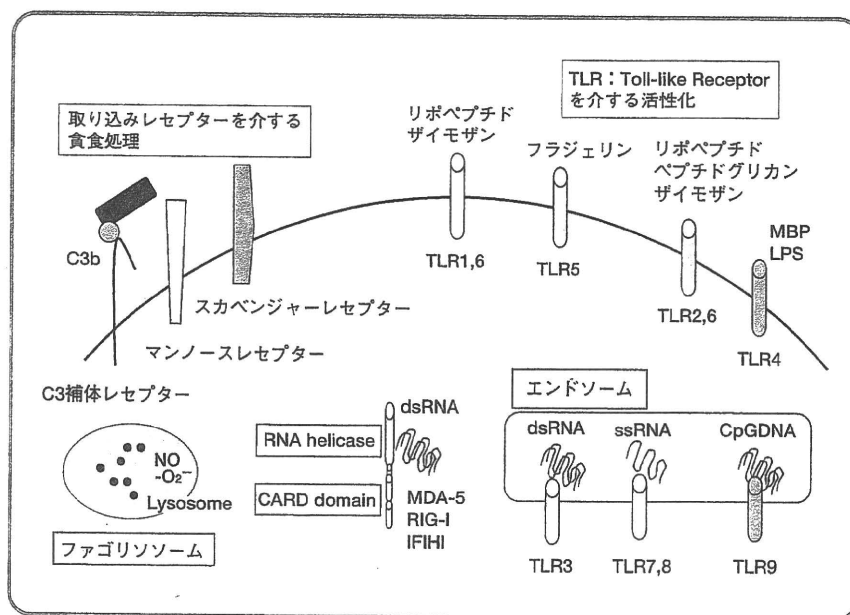


図6. 自然免疫における非特異的およびパターン認識機構—マクロファージ, 樹状細胞の病原体認識機構—

のうち, IFIH1 (interferon induced helicase C, domain 1) の多型が1型糖尿病と関連することが報告されている¹⁸⁾。この多型が感受性を決定するのか, あるいは抵抗性に与るのかの詳細は今後の研究課題であろう。

5) 宿主の1型糖尿病発症感受性(HLA)の関与

1型糖尿病感受性遺伝子は数多く報告されている。なかでも主要組織適合性抗原(HLA)が, 人種によって差があるものの, そのリスク要因であることは確立されている。日本人では, DRB1*0405, *0901, DQB1*0303, *0401が感受性, DRB1*1501, *1502, DQB1*0601, *0602が抵抗性であるとされている¹⁹⁾。その他, T細胞の活性化抑制因子であるPTPN22 (Protein tyrosine phosphatase N22), INS (インスリン遺伝子)なども感受性要因である²⁰⁾。ウイルス感染症が引き金となって, このような高感受性を有するヒトに自己免疫が誘導されやすいことは想像に難くない。ただし, 自己免疫糖尿病を発症した症例で, ウイルス感染症が契機として関与しているかどうかを検証することはきわめて難しい。

2 自己免疫誘導の抑制

Filippiらは, Coxsackie B3ウイルスあるいはlymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)を自己免疫糖尿病モデル動物であるNODマウスに感染させたところ糖尿病の発症が遅延し, その原

因として, リンパ球におけるprogrammed cell death-1 ligand 1 (PD-L1)の発現が上昇することによるPD-1 表出CD8陽性細胞傷害性T細胞の増殖抑制に加えて, CD4+CD25+Tregの増加がもたらされるとする興味深い研究を報告している⁶⁾。すなわち, 本研究は, ウイルス感染が調節性T細胞を傷害することにより, 1型糖尿病が誘発されるリスクが存在する一方, むしろ調節性T細胞を増加させることにより1型糖尿病発症を阻止しうること示しており, ウイルス感染が宿主免疫機構に及ぼす影響の多面性を理解する上でも興味深い知見である。

おわりに

ウイルス感染と自己免疫糖尿病の関連は, 十分ありうるものの, その直接の証拠は乏しいのが現状である。もし, あるウイルスが自己免疫糖尿病誘発の原因であることが判明すればワクチンによる予防が可能となるであろう。ただし, 現時点では, 自己免疫糖尿病の症例について, ウイルス感染を契機として発症したことを証明することは困難である。そもそも, 本稿で述べてきたように, 自己免疫応答は多くのメカニズムで, 多重に制御されている。ウイルス感染によって惹起された自己免疫応答が制御され, 終息するのか, あるいは, 臨床的な自己免疫に

つながるのかは、さまざまな免疫制御メカニズム、感受性要因が複合して関与するのではないかと推測される(図3)。ただし、ウイルスが膵島β細胞に感染することが自己免疫反応誘導のトリガーとなりうることは疑いの余地がない。まず、膵島細胞に親和性が高いウイルスを同定するような、ウイルスの糖尿病誘発性検定システムの開発が喫緊の課題であると考えられる。

◎文 献

- 永淵正法：糖尿病発症に関わるウイルス感染症—糖尿病ウイルス原因説—。月刊糖尿病 1 : 144-151, 2009
- Chervonsky AV : Influence of microbial environment on autoimmunity. Nat Immunol 11 : 28-33, 2010
- 金井文彦, 小俣政男：薬剤による耐糖能障害—インターフェロン。日本臨牀 63 : 315-319, 2005
- 楠原浩一：先天性風疹症候群と糖尿病。月刊糖尿病 1 : 116-124, 2009
- Oldstone MB : Prevention of type 1 diabetes in nonobese diabetic mice by virus infection. Science 239 : 500-502, 1988
- Filippi CM, Estes EA, Oldham JE, et al : Immunoregulatory mechanisms triggered by viral infections protect from type 1 diabetes in mice. J Clin Invest 119 : 1515-1523, 2009
- Pak CY, Eun HM, McArthur RG, et al : Association of cytomegalovirus infection with autoimmune type 1 diabetes. Lancet 2 : 1-4, 1988
- Nagamine K, Peterson P, Scott HD, et al : Positional cloning of the APECED gene. Nat Genet 17 : 393-398, 1997
- Sakaguchi S : Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. Nat Immunol 6 : 345-352, 2005
- Kogawa K, Kudoh J, Nagafuchi S, et al : Distinct clinical phenotype and immunoreactivity in Japanese siblings with autoimmune polyglandular syndrome type 1 (APS-1) associated with compound heterozygous novel AIRE gene mutations. Clin Immunol 103 : 277-283, 2002
- Yoshimura A, Naka T, Kubo M : SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. Nat Rev Immunol 7 : 454-465, 2007
- Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Krause-Steinrauf H, et al : Rituximab, B-lymphocyte depletion, and preservation of beta-cell function. N Engl J Med 361 : 2143-2152, 2009
- Akashi T, Nagafuchi S, Anzai K, et al : Direct evidence for the contribution of B cells to the progression of insulinitis and the development of diabetes in non-obese diabetic mice. Int Immunol 9 : 1159-1164, 1997
- Kondo S, Iwata I, Anzai K, et al : Suppression of insulinitis and diabetes in B cell-deficient mice treated with streptozocin: B cells are essential for T cell receptor clonotype spreading in islet-infiltrating T cells. Int Immunol 12 : 1075-1083, 2000
- Nagafuchi S, Katsuta H, Anzai K : Rituximab, B-lymphocyte depletion, and Beta-cell function. N Engl J Med 362 : 761, 2010
- 1975年 九州大学医学部卒業, 第1内科入局
- 1976年 同 大学大学院(ウイルス学), NIH留学
- 2008年 九州大学大学院医学研究院保健学部門病態情報学教授
研究テーマ: ウイルス糖尿病, 自己免疫調節遺伝子(AIRE)
趣味: 釣り, 囲碁



筆者プロフィール

永淵 正法



筆者プロフィール

近藤 しおり

- 1993年 九州大学医学部卒業, 第1内科入局
- 1995年 同 大学医学部第1内科研究生
- 1999年 松山赤十字病院勤務
- 2004年 医学博士
- 2008年 松山赤十字病院内科第二部長
内科, 主に糖尿病診療に従事。
16. Takeuchi O, Akira S : Innate immunity to virus infection. Immunol Rev 227 : 75-86, 2009
17. Zipris D, Lien E, Nair A, et al : TLR9-signalling pathways are involved in Kilham rat virus-induced autoimmune diabetes in the biobreeding diabetes-resistant rat. J Immunol 178 : 693-701, 2007
18. Smyth DJ, Cooper JD, Bailey R, et al : A genome-wide association study of nonsynonymous SNPs identifies a type 1 diabetes locus in the interferon-induced helicase (IFIH1) region. Nat Genet 38 : 617-619, 2006
19. 川畑由美子 : 1型糖尿病の成因 : 遺伝因子 HLA. 月刊糖尿病 1 : 16-23, 2009
20. 栗田卓也 : 1型糖尿病の成因 : 遺伝因子 non-HLA. 月刊糖尿病 1 : 24-30, 2009

自己免疫疾患と炎症

Autoimmune Diseases and Inflammation

永淵正法, 塚本 浩, 新納宏昭, 小林隆志

Seiho Nagafuchi, Hiroshi Tsukamoto, Hiroaki Niuro, Takashi Kobayashi

最近の免疫学の進歩により、非特異的免疫から特異的免疫をつなぐパターン認識 (PAMPs) 機構の存在、また、T細胞応答にTh1, Th2反応に加えてTh17応答の重要性が示されている。一方、自己免疫応答制御については、胸腺における自己反応性制御に関わる自己免疫調節遺伝子 (AIRE)、末梢における制御性T細胞 (Treg)、細胞内シグナル調節分子 (SOCS) などの重要性が次々と明らかになってきた。さらに免疫応答調節機構を標的とする自己免疫疾患治療薬の進歩は著しい。今後も自己免疫制御機構の解明と治療法が進展し、自己免疫疾患の治療につながることを期待したい。



key words

自己免疫, 炎症, 免疫制御

はじめに

ヒトは生体を病原体の攻撃から守るために、外敵である病原体を非特異的に認識するメカニズム、パターンで感知する機構、特異的かつ幅広く反応するシステムを発達させてきた。特に、特異的な認識機構として結合受容体 (T細胞受容体, B細胞受容体) を遺伝子のランダムな再構成を行うことで構築し、攻撃してくる病原体に広く対応できるように準備されている¹⁾。しかしながらそのメカニズムは、一方で自己にも反応しうる受容体の出現を生み出すため、自己免疫応答は言わば必然的な病態であり、むしろ自己免疫疾患を発症せず健康でいられることは驚くべきことでもある。事実、自己反応性を除去することはかなり困難であるため、生体は多くのシステムで自己応答を多重に制御している。自己免疫疾患は、この制御機構の単一もしくは複数の障害が重なることで発症するため、そのメカニズムの解明は複雑であり、表現型として同一であってもそれぞれの症例によって発症メカニズムは多彩である。一方、最近の免疫治療学の進歩は、自己免疫反応に関わる炎症惹起物質制御について、従来のステロイド療法、免疫抑制剤の治療に加えてより直接的な抗サイトカイン療法であるTNF- α 阻害薬、抗インターロイキン6受容体 (IL-6R) 抗体などの有用性が認識されつつある²⁾。さらに最近、B細胞除去療法が臨床的に広く有用であることが示唆されてきた^{3), 4)}。本稿では、自己免疫疾患の制御メカニズムとその破綻、治療まで幅広く網羅的に解説したい。

I 自己免疫応答制御機構とその治療

1. 樹状細胞

1) 樹状細胞による免疫応答制御

樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞 (antigen presenting cell; APC) の過剰な活性化が炎症や自己免疫疾患を引き起こすことが知られている。例えば、APCの活性化に必須なTLR (Toll-like receptor) シグナルやTNF受容体ファミリーのシグナルを抑制する細胞内制御因子IRAK-M (IL-1 receptor-associated kinase-M), A20およびCYLD (cylindromatosis) などを欠損するマウスは、炎症性サイトカインやメディエーターの産生が亢進し、炎症の増悪化や自然発症を来す^{5), 6)}。また、インターフェロン- γ (IFN- γ) /STAT1シグナルの負の制御因子であるSOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1) 欠損マウスも腸炎や皮膚炎などの激しい炎症疾患を呈し、SOCS1欠損樹状細胞はナイーブヘルパーT細胞をIFN- γ 産生エフェクター細胞 (Th1細胞) へ強力に分化誘導する⁷⁾。さらに、APCの活性化を抑制する抗炎症性サイトカインであるIL-10やそのシグナル伝達分子であるSTAT3が欠損するとTh1細胞の誘導が亢進し腸炎が発症する⁸⁾。このように炎症や自己免疫疾患の発症過程で、樹状細胞が自己反応性T細胞の活性化を惹起する側面が注目されてきたが、最近では樹状細胞による免疫機能の抑制効果が注目されている。従来、副刺激分子の発現レベルが低く炎症性サイトカインを産生していない状態のいわ

ゆる未熟樹状細胞は、単に成熟樹状細胞へ至る分化過程として捉えられていた。しかし、未熟樹状細胞のある集団が選択的にFoxP3陽性制御性T細胞(FoxP3⁺Treg)を誘導し、末梢の免疫寛容(トレランス)誘導に働いていることが明らかになってきた。特に、未熟樹状細胞がFoxP3⁺Tregを誘導するのにTGF- β が重要であることや、樹状細胞上のB7とT細胞上のCTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4)の分子相互作用が重要であることが示されている^{9), 10)}。また、腸内では腸内細菌に対する過剰な免疫応答を抑制するための特殊な樹状細胞集団が存在し、これらがT細胞に対してIL-10の産生を促している。この仕組みは経口トレランスを誘導するのに重要であると考えられている^{9), 10)}。特に、粘膜固有層(lamina propria)や腸間膜リンパ節(mesenteric lymph node)に存在するCD103陽性樹状細胞は、 α V β 8インテグリンなどを発現し、不活性型TGF- β を活性型に変換して効率良くFoxP3⁺Tregを誘導することが示されている^{9), 10)}。さらに、マウスの樹状細胞を除去すると体重減少、自己抗体の産生、Th1, Th17細胞(IL-17産生細胞)の増加および腸炎の自然発症などが見られることから、定常状態の樹状細胞が末梢組織のトレランス維持に重要な役割を果たしていることが証明された¹¹⁾。

2) 樹状細胞を標的とした治療

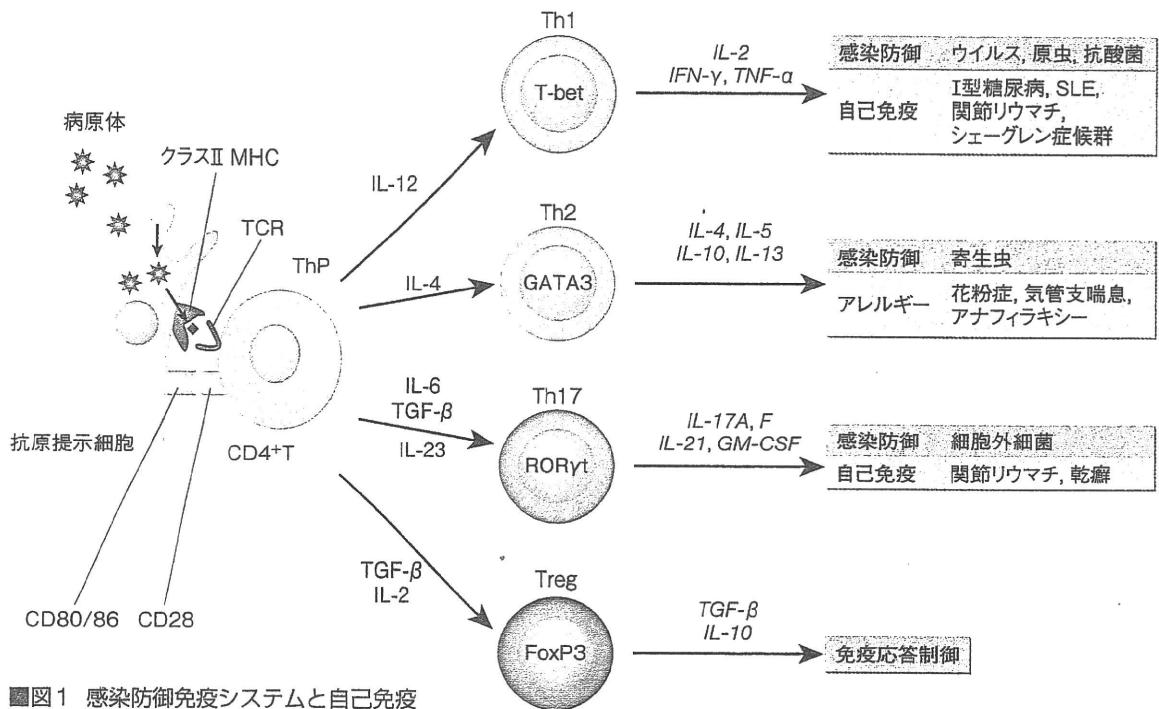
抗原特異的なトレランスを誘導することで安全かつ効果的に自己免疫疾患を治療しようという試みがなされている(免疫システム全体には影響を及ぼさずに自己反応性の免疫細胞に対して特異的な免疫抑制状態を誘導できれば、感染などの副作用が軽減される)。免疫抑制性のAPCに病因となる自己抗原ペプチドを提示させ、抗原特異的なエフェクターT細胞を抑制しTregを誘導する試みとして、①可溶性ペプチドやDNAワクチンによるトレランス誘導法、②粘膜(経口や経鼻)を介するトレランス誘導法、③改変ペプチドリガンド(altered-peptide ligand; APL)によるトレランス誘導法、④抗原を結合させた細胞によるトレランス誘導法などが開発されている¹²⁾。高濃度の可溶性ペプチドを静脈投与することで抗原特異的T細胞の不応答(アナジー)や細胞死を誘導することができる。これを応用してI型糖尿病モデルであるNOD(nonobese diabetic)マウスに膵臓の β 細胞由来自己抗原ペプチドを静脈投与して自己反応性T細胞を除去すると、病態発症を抑えられることが報告されている。しかしながら、多発性硬化症モデル(実験的アレルギー性脳炎; experimental allergic encephalomyelitis; EAE)

では、抗原ペプチドの投与によりマウスに致命的なアナフィラキシーが観察されたり、サルでは病態の悪化が観察されたりしたことから、確実に抗原特異的トレランスを誘導することの難しさが指摘されている¹²⁾。一方、食物由来の抗原が腸管粘膜を経由して取り込まれると、その抗原に対してトレランスになることが古くから知られているが、これを応用して自己抗原を経口摂取させ、より安全に抗原特異的トレランスを誘導する試みがなされている。EAE、ぶどう膜炎、腸炎および喘息モデルなどの様々な自己免疫疾患マウスモデルにおいて経口トレランスが病態発症の予防に有効であることが報告されている。しかしながら、いったん発症したEAEについてはその効果は弱く、多発性硬化症の患者でもミエリンの経口投与はまったく効果が認められなかった。また、I型糖尿病患者や関節リウマチ(RA)患者でも効果が認められないことから、この方法による病態発症後の治療には多くの課題が残されている¹²⁾。一方、病因となる自己抗原ペプチドを改変したAPLは、自己抗原ペプチドに対してアンタゴニストとして作用したり、部分アゴニストとして作用したりする。これにより、T細胞の活性化が阻害されたり不完全な活性化が誘導されることで、抗原特異的なTh1細胞やTh17細胞の誘導が抑えられると考えられている。現在、多発性硬化症やI型糖尿病に対する様々なAPLが開発され、臨床試験が進められている¹²⁾。また、抗原ペプチドを末梢リンパ球に結合させ、ECDI(ethylene carbodiimide)で固定したものを投与すると抗原特異的なトレランスが誘導される。この方法によって、実際にEAEの予防効果だけでなく発症後の治療効果も認められている。アナフィラキシーの危険性も低く多発性硬化症の治療に向けた臨床応用が検討されている¹²⁾。

2. T細胞

1) T細胞と自己免疫

免疫応答の質と量の制御に中心的に関わっているT細胞には、Th1, Th2, Th17, Treg, Tr-1, T_{FH}など様々な系列があり、それぞれが特徴的なサイトカインと転写因子によって誘導されていることが明らかとなってきている。具体的には、Th1細胞はIL-12によって誘導され、STAT1, STAT4を介して転写因子T-betの働きによりIL-2, IFN- γ やTNF- α を産生し、ウイルス、原虫、抗酸菌などの細胞内寄生体を排除する。Th2細胞はIL-4によって誘導され、STAT6を介して転写因子GATA3の働きによりIL-4, IL-5, IL-10, IL-13を産生し、寄生虫の排除に作用する。Th17細胞はTGF- β , IL-6, IL-23によって誘導され、STAT3を介して転写因子



■図1 感染防御免疫システムと自己免疫

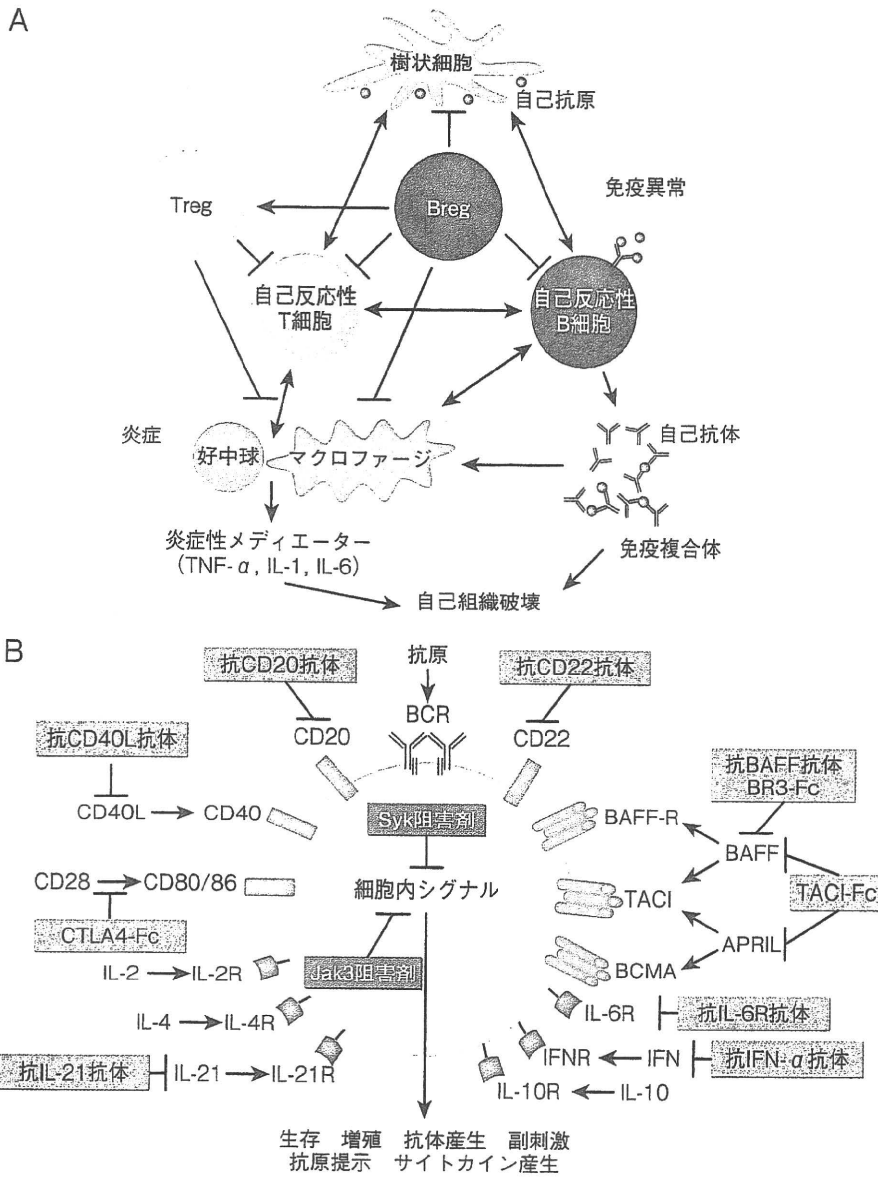
ROR γ t (retinoic acid orphan receptor γ t) の働きにより IL-17A, IL-17F, IL-21, GM-CSFなどを産生し、細胞外細菌の防御のための好中球反応を誘導する。一方、このような免疫応答を制御するTregはTGF- β 、IL-2によって誘導され、転写因子FoxP3の働きにより自己免疫の制御も含め、免疫応答を調節している(図1)。さらに、TGF- β 、IL-27によってIL-10を産生するTr-1も免疫抑制に働くと考えられている¹³⁾。

T細胞応答は、本来、病原体の排除に関わるべきであるが、一方では自己応答性がそれぞれの反応によって惹起される二面性を有している。自己応答性の制御は、まず、主たる自己反応性T細胞除去に働くことが知られている胸腺において、MHC(主要組織適合性抗原)と異所性に末梢抗原を発現提示する自己免疫調節遺伝子(autoimmune regulator; AIRE)の働きによるメカニズムと、同時に末梢における自己反応制御を担うTregを誘導させる、少なくとも2つの機能を有している。次に、末梢における自己免疫応答制御には、①樹状細胞レベルでのアポトーシス細胞取り込みによるサイトカインシグナル制御、②T細胞活性化後のアポトーシス誘導に関わるFas, PD-1などのアポトーシス関連分子、③CTLA4を発現し、免疫制御に関わるTregの働きなどが挙げられる。このような自己反応制御機構の破綻により、T細胞応答が様々

な自己免疫疾患に関わっていることが明確になっている。例えば、Th1細胞はI型糖尿病など多くの病態に関わり、Th17細胞は炎症性腸炎や乾癬の原因であることが示されている。一方、Th2細胞はいわゆるアレルギー疾患の原因である。さらに最近、IL-21によって誘導されB細胞の分化成熟に働くT_{FH}(follicular T-helper)細胞の存在も示唆されている。このようなT細胞の分化誘導には特有のサイトカインシグナルが重要であると同時に、それぞれの系列の相互作用、柔軟性、交差性などについても報告されている¹³⁾。T細胞の免疫機能に関わる知見はこれからも積み重ねられ、そのパラダイムは次々と塗り替えられるであろう。

2) T細胞標的療法

抗原特異的に自己反応性T細胞を除去する治療法は未発達であるが、シクロスポリン、タクロリムスはT細胞活性化に働くNFAT(nuclear factor of activated T cells)の脱リン酸化に必要なカルシニューリン酵素活性を阻害してIL-2遺伝子の転写を抑制し、T細胞機能を低下させる。また、ラパマイシスはmTORに作用して細胞増殖抑制に作用すると同時にTh17細胞を抑制し、Treg誘導に働くことが明らかとなってきた。いずれも広く自己免疫疾患、移植免疫制御に使用されている¹³⁾。抗CD3抗体は、一部の自己免疫疾患に有効であ



■図2 自己免疫疾患におけるB細胞の役割 (A) とエフェクターB細胞を標的とした治療戦略 (B)

る。いずれの方法も当然ながら感染のリスクを増大させるため、サイトメガロウイルス、真菌感染症も含め感染症合併のモニターが必要となる。その他の臓器障害として肝障害、腎障害、骨髄抑制、神経障害、胃腸障害など多くの副作用が挙げられる。シクロスポリン、タクロリムスは膵島機能も低下させるため、耐糖能障害による血糖上昇の可能性も念頭におかねばならない¹³⁾。今後のT細胞制御による自己免疫疾患治療の標的として、細胞内シグナル活性化分子であるJak (Janus Kinase)、細胞内シグナル抑制分子であるSOCS1、副

刺激分子、接着分子など多くの候補分子に関わる薬剤が開発中であり、今後の進展が期待できる。

3. B細胞

1) 自己免疫疾患におけるB細胞の役割

近年、自己免疫疾患におけるB細胞の重要性が抗CD20抗体を使用した殺B細胞療法が効果を上げていることから再認識されている^{3), 4)}。ここで着目すべき点は、B細胞が単に自己抗体産生を通してだけでなく、その抗原提示能、副刺激分子発現能、サイトカイン産生能、ケモカイン産生能などの多彩な機能を営むエフェクター細胞として、樹状細胞、T細胞、マクロファージ・好中球などの種々の免疫・炎症担当細胞との相互作用を通じて病態へ積極的に関与していることである¹⁴⁾(図2A)。

ただ同時に、抗CD20抗体療法が骨髄プレB細胞から形質芽球の分化段階までのB細胞を無差別に除去することで、疾患の増悪を来す病態も判明してきた。この知見に基づいて、病原性を持つ自己反応性エフェクターB細胞とは異なる制御性B細胞(Breg)と呼ばれるB細胞亜集団の存在が最近明らかになった¹⁵⁾(図2A)。

すなわち、自己免疫疾患におけるB細胞は常に悪役ではなく、病態によってはBregとして善役を演じてい

る。前者の例としてはI型糖尿病があり^{3), 4)}、後者の例としては炎症性腸疾患や乾癬などがあり、B細胞除去による疾患の増悪を認めた。以上より、自己免疫疾患の各病態において、自己反応性エフェクターB細胞あるいはBregのどちらが中心的役割を果たしているかが異なると思われる。

エフェクターB細胞とBregの大きな相違点として、BregによるIL-10の産生が着目されている。筆者らはIL-10のマクロファージ・好中球活性化への抑制機構を明らかにしたが¹⁶⁾、IL-10は樹状細胞、T細胞などの機能も制御しうる

■表1 自己免疫疾患の炎症抑制に関わる薬剤

薬剤名	剤型	標的	対象疾患	作用機序
インフリキシマブ	キメラ型抗体IgG1	TNF- α	RA, JIA, クローン病, ベーチェット病, 乾癬, 強直性脊椎炎	TNF- α の中和, TNF- α 産生細胞の傷害
エタネルセプト	II型TNF受容体とFc (IgG1)の融合タンパク質	TNF- α TNF- β	RA, JIA, 乾癬, 強直性脊椎炎	TNF- α , TNF- β の中和
アダリムマブ	ヒト型抗体IgG1	TNF- α	RA, JIA, クローン病, ベーチェット病, 乾癬, 強直性脊椎炎	TNF- α の中和, TNF- α 産生細胞の傷害
トシリズマブ	ヒト化抗体IgG1	IL-6受容体	RA, JIA, キャッスルマン病	IL-6の受容体への結合阻止, IL-6受容体とgp130との機能的複合体の形成阻止
アナキンラ	IL-1受容体アンタゴニスト	IL-1受容体	RA, 自己炎症性疾患 (クライオピリン関連周期熱症候群など)	IL-1の受容体への結合を競合阻害
LY2439821	ヒト化抗体	IL-17	RA	IL-17の中和
MP-435	低分子化合物	C5a受容体	RA	C5aの受容体への結合を拮抗阻害?
エキユリズマブ	ヒト化抗体IgG2とIgG4	補体C5	発作性夜間血色素尿症	C5に結合しC5からC5aとC5bへの限定分解を阻害

RA: 関節リウマチ, JIA: 若年性特発性関節炎.

ことから, Bregは自己免疫疾患の病態へ広く関与していると思われる(図2A).

ただ, Bregの知見の大半はマウスの系によるものであり, 今後ヒト病態での十分な検証が必要である. また, ヒトBregの存在を仮定した場合, これらの細胞とエフェクター細胞での機能発現の分子機構の相違点の解明は重要である. 最近筆者らは, ヒトB細胞サブセット間の機能相違の分子機構をDNAマイクロアレイ法にて明らかにした¹⁷⁾. 今後, Bregを温存しつつ, エフェクターB細胞のみを標的としたより理想的な治療法の開発が強く望まれる.

2) エフェクターB細胞を標的とした治療戦略

自己免疫性エフェクターB細胞の機能発現の分子機構については明らかになりつつあり, それらを分子標的とした治療法が次々と開発されつつある(図2B).

CD22の発現は成熟B細胞に見られ, 抗CD22抗体使用によりこれらのB細胞が除去される. 全身性エリテマトーデス(SLE)での使用により疾患活動性低下がこれまでに報告されている³⁾.

マクロファージや好中球などの骨髄系細胞から主に産生されるBAFF(B cell-activating factor belonging to the TNF family)やAPRIL(a proliferation-inducing ligand)は, BAFF-R, TACI(transmembrane activator and CAML interactor), BCMA(B-cell maturation antigen)受容体を介してB細胞の生存や分化を促進する作用がある. BAFFのみの結合を阻害する抗BAFF抗体やBR3-Fcタンパク質による治療法, BAFFとAPRIL両方の結合を阻害する

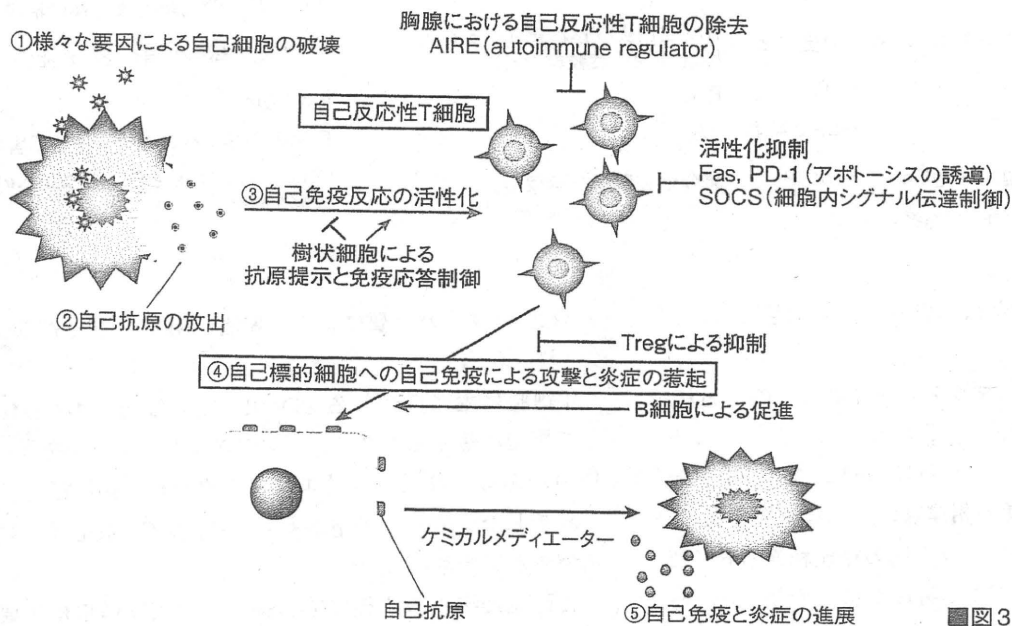
TACI-Fcタンパク質による治療法がSLEなどで進みつつある¹⁸⁾.

T細胞に主に発現するCD40Lは, B細胞上のCD40を介して細胞増殖や免疫グロブリンのクラススイッチを促進する作用がある. 自己免疫性エフェクターB細胞にはクラススイッチしたメモリー細胞が多いため, 抗CD40L抗体による治療法が期待される.

自己免疫疾患の病態でT-B細胞間の相互作用は重要であり, 特にT細胞上のCD28とB細胞上のCD80/CD86の相互作用は強力なB細胞活性化を誘導する. CTLA4-Fcタンパク質はこれらの相互作用を阻害することで作用し, 現在RAを中心として治療効果を上げている¹⁹⁾.

サイトカインは, 細胞上の特異的受容体を介してB細胞に対して多彩な機能変化を誘導する. この中で, IL-6, IL-21はB細胞に対して抗体産生細胞へ強力に分化させる作用を持つ. 抗IL-6R抗体は, 自己免疫疾患のRAのみならず, キャッスルマン病, 多発性骨髄腫などの疾患への治療効果が期待されている²⁰⁾. また, 抗IL-21抗体を使用した自己免疫疾患の治療も今後期待される. IFNはB細胞に作用し, 形質細胞への分化を強力に促進する作用がある. 最近, SLEなどの自己免疫疾患において, 末梢血の遺伝子発現の特徴としてIFN signatureが注目されている. 現在, 抗IFN- α 抗体によるSLEへの治療が試みられつつある²¹⁾.

以上のエフェクターB細胞を標的とした治療戦略は, 細胞表面分子を標的とした抗体製剤やFc融合タンパク質を使用したものである. これらの表面分子を介した刺激は, 細胞内シグナルに変換されて最終的な機能発現を誘導する. した



■図3 自己免疫の誘導とその制御機構

がって、新たな治療戦略としてはB細胞内シグナル分子も標的になりうる。SykはB細胞受容体(BCR)シグナルの最上流に位置する重要なチロシンキナーゼであり、この分子を標的とした低分子阻害剤がRAなどで試みられている²²⁾。また、Jak3はIL-2, 4, 7, 9, 15, 21などのサイトカイン受容体シグナルの下流で機能するチロシンキナーゼであり、この分子を標的とした低分子阻害剤がRAで効果を上げている²³⁾。その作用標的としてT細胞があるが、B細胞もこれらの受容体を発現しているため、同様の効果が期待できる。

4. 炎症惹起物質

1) サイトカイン, ケモカイン, ロイコトリエン, 補体などの意義とその働き

自己免疫疾患における炎症惹起物質としてサイトカインやケモカイン, 脂質メディエーター, 補体などが重要な役割を果たしている。サイトカインのうち, TNF- α はサイトカインカスケードの最上流に位置し, RA, クローン病などの自己免疫疾患における炎症に関わっている。TNF- α は単球系細胞より産生され, 受容体に結合すると転写因子NF- κ BやMAPキナーゼが活性化し, IL-1やケモカインなどの炎症性分子の誘導や細胞機能の活性化が起こる。IL-1も主に単球系細胞により産生される炎症性サイトカインであり, 免疫担当細胞の機能亢進やIL-6などのサイトカイン産生亢進を誘導する。IL-6は単球系細胞やリンパ球などから産生される

炎症性サイトカインで, 肝臓における急性期タンパク質の産生促進, 抗体産生細胞の増殖, Tregの機能抑制などの作用がある。IL-17は主に活性化T細胞より産生され, 血管内皮細胞や単球系細胞に作用して炎症性サイトカイン, ケモカイン, 細胞接着因子などを誘導して炎症を惹起する。IL-17欠損マウスではコラーゲン誘導関節炎(CIA)やEAEの発症が抑制されることより, 自己免疫疾患への関与が強く示唆されている²⁴⁾。

ケモカインは自己免疫疾患において, 標的組織への炎症細胞の遊走を促進する。ケモカインは50種類以上が同定されており, システイン配列の違いによりCC, CXC, C, CX3Cの4種類に分類される。CCケモカインのうち, RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted)とMIP-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α)はTh1細胞遊走に関わり, TARC (thymus and activation-regulated chemokine)とMDC (macrophage-derived chemokine)はTh2細胞遊走に関わる。CXCケモカインの代表はIL-8で主に好中球遊走に関わる。RANTES, MIP-1 α , IL-8はRA患者の関節内で高発現し, また, RANTES, MIP-1 α の受容体であるCCR5の阻害によりCIAの発症が抑制される²⁵⁾。

脂質メディエーターであるプロスタグランジン(PG)のうちPGE₂は血管透過性の亢進, 血管拡張および発痛にPGI₂は血管拡張および発痛に関与し, 炎症を促進する。近年, PGE₂がTh17細胞の分化に関与することが明らかにされ,

注目されている²⁶⁾。ロイコトリエン(LT)ではLTB₄が好中球に走化性を与え、LTC₄、LTD₄、LTE₄は血管透過性の亢進や肥満細胞からのケモカインの産生を誘導し炎症に関わる²⁷⁾。

補体系は自己抗体が標的細胞に結合した際や自己抗体を含む免疫複合体が組織に沈着した際に活性化され、細胞障害あるいは組織障害を引き起こす。補体活性化の過程で生じるC5aは単球、好中球、好酸球の走化性を亢進させることにより炎症を促進する。ヒト先天性補体欠損症や補体欠損マウスの解析により、自己免疫疾患における補体の役割が明らかになった²⁸⁾。

2) 炎症の抑制

近年の生物学的製剤による分子標的療法は、自己免疫疾患における炎症に対する治療に革命をもたらし、現在も多くの分子標的薬が開発中である。きっかけとなったのはサイトカインカスケードの最上位に位置するTNF- α の阻害薬であり、RA、若年性特発性関節炎(JIA)、クローン病、ベーチェット病、乾癬、強直性脊椎炎など多くの自己免疫疾患あるいは慢性炎症性疾患における炎症の制御が可能となった。国内で承認されたTNF阻害薬にはインフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ(表1)があり、投与経路、投与間隔、適応疾患などに違いがある²⁹⁾、³⁰⁾。IL-6はTNF- α やIL-1により誘導され、サイトカインカスケードでは下流に位置すると考えられてきたが、IL-6阻害薬である抗IL-6受容体抗体トシリズマブはRAやJIAにおいて強力な抗炎症作用を有することが明らかになった。IL-1阻害薬もRAに対する効果が期待されたが、TNFやIL-6阻害薬に比べ抗炎症作用は弱く、現在はクライオピリン関連周期熱症候群などの自己炎症性疾患に対する有効性が注目されている³⁰⁾。IL-17が種々の自己免疫疾患の炎症において重要な役割を果たすことが明らかになり、まずRAにおいて抗IL-17抗体の臨床第I相試験が行われ、期待できる結果が得られている³¹⁾。

ケモカインではRANTES、MIP-1 α の受容体であるCCR5への結合を阻害する低分子化合物が開発され、RAに対する臨床第II相試験が行われている。

PGによる炎症や疼痛の制御には従来より、非ステロイド

抗炎症薬としてシクロオキシゲナーゼ(COX)阻害薬が用いられてきたが、近年炎症性PGであるPGE₂、PGI₂産生のみを抑制するCOX-2選択的阻害薬が臨床応用され胃腸障害などの副作用が軽減されたことより、急速に普及しつつある。

抗補体薬としてはC5a受容体拮抗薬が開発され、現在RAに対する臨床第II相試験が進行中である。抗C5抗体エキュリズマブは発作性夜間血色素尿症に対して有効であることが明らかになったが³²⁾、補体の活性化が制御できることから、今後SLEやRAへの臨床応用が期待される。

おわりに

近年の爆発的な免疫学の進歩は、免疫応答系の多様性、複雑な調節機構など多くの知見をもたらし、自己免疫疾患の発症機構の解明に貢献してきた(図3)。さらに、その知識を活用した治療薬剤の臨床的有用性が幅広く検討される段階に至っている。今後、自己免疫と炎症、その制御に関わる基礎的、臨床的研究のさらなる進展が自己免疫疾患の克服につながることを期待したい。

PROFILE 永淵正法

- 九州大学大学院医学研究院 保健学部門 病態情報学
- E-mail: nagafuchi@shs.kyushu-u.ac.jp
- 趣味: 魚釣り, 囲碁, 野球観戦

1975年九州大学医学部卒業、同年同第一内科入局。1976年同大学院医学研究科(ウイルス学専攻)米国NIH留学。1981年九州大学医学部第一内科助手。2000年九州大学医療技術短期大学部教授、九州大学病院併任講師。2007年九州大学大学院医学研究院保健学部門病態情報学教授。研究テーマはウイルス糖尿病の発症機構、自己免疫調節遺伝子(AIRE)の発現制御と機能。

PROFILE 塚本 浩

- 九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学

PROFILE 新納宏昭

- 九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学

PROFILE 小林隆志

- 慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター

MINI-REVIEW

The role of B cells in regulating the magnitude of immune response

Seiho Nagafuchi

Department of Medical Science and Technology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, 812-8582, Japan

ABSTRACT

Recently, accumulating evidence has suggested that B cell depletion therapy with rituximab is effective not only in autoantibody-associated, but also in T cell-mediated, autoimmune diseases. It is likely that B cells play an important role in regulating the extent of immune response in both physiological and pathological conditions. When a severe infection occurs, pathogens spread throughout the bloodstream. B cells in the blood capture the pathogens, via their specific antigen receptors (surface immunoglobulins), then present the specific antigen to T cells in the spleen, thus increasing the degree of T-cell immune responses to systemic infection. Similarly, in the exacerbation stage of autoimmunity, a large amount of autoantigens may be released into the blood and be captured by autoantigen specific B cells, and this may be followed by presentation of the antigen to CD4 positive autoreactive T cells resulting in extensive activation and proliferation of autoreactive T cells. Thus, it has been suggested that B-cell depletion therapy for autoimmune diseases is most useful for the “vicious cycle” phase of autoreactive immune response. The recognition of this paradigm for the role of B cells in regulating the magnitude of immune response will help to facilitate both basic and clinical research on the regulation of immune responses.

Key words autoimmune disease, B cell, immunoregulation, rituximab.

Accumulating evidence has suggested that B cell-depletion therapy with rituximab is effective in a wide range of autoimmune diseases. These include not only autoantibody-associated diseases such as hemolytic anemia, autoimmune thrombocytopenic purpura, pemphigus, ANCA-associated vasculitis, systemic lupus erythematosus in the refractory phase and rheumatoid arthritis (1–3), but also the preservation of beta cell function in patients with early onset of type 1 diabetes (4), which is representative of T cell-dependent autoimmune diseases (5). All these observations taken together suggest that B cells play a significant role in regulating autoreactive T-cell responses as well as autoantibody production. However, the exact role of B

cells in the regulation of immune responses *in vivo* remains elusive (6–8).

In terms of its physiological significance, the immune system is constructed to resist pathogenic infections according to the species of pathogen and the severity of infection. It is known that B cells not only produce antibody but also work as antigen presenting cells, and excrete cytokines (8, 9).

Regarding the role of B cells in the immune response against infection, it should be noted that B cells circulate in the bloodstream to meet pathogens via their antigen specific receptors; these are membrane-type surface immunoglobulins. On the other hand, the so-called

Disclosure: No potential conflict of interest relevant to this letter was reported.

Correspondence

Seiho Nagafuchi, Department of Medical Science and Technology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 812 8582, Japan.

Tel. and fax: +81 92 642 6731; email: nagafuchi@shs.kyushu-u.ac.jp

Received 8 April 2010; accepted 9 May 2010.

List of Abbreviations: ANCA, anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody; MHC, major histocompatibility complex; NOD, non-obese diabetic; pAPC, professional antigen presenting cells.

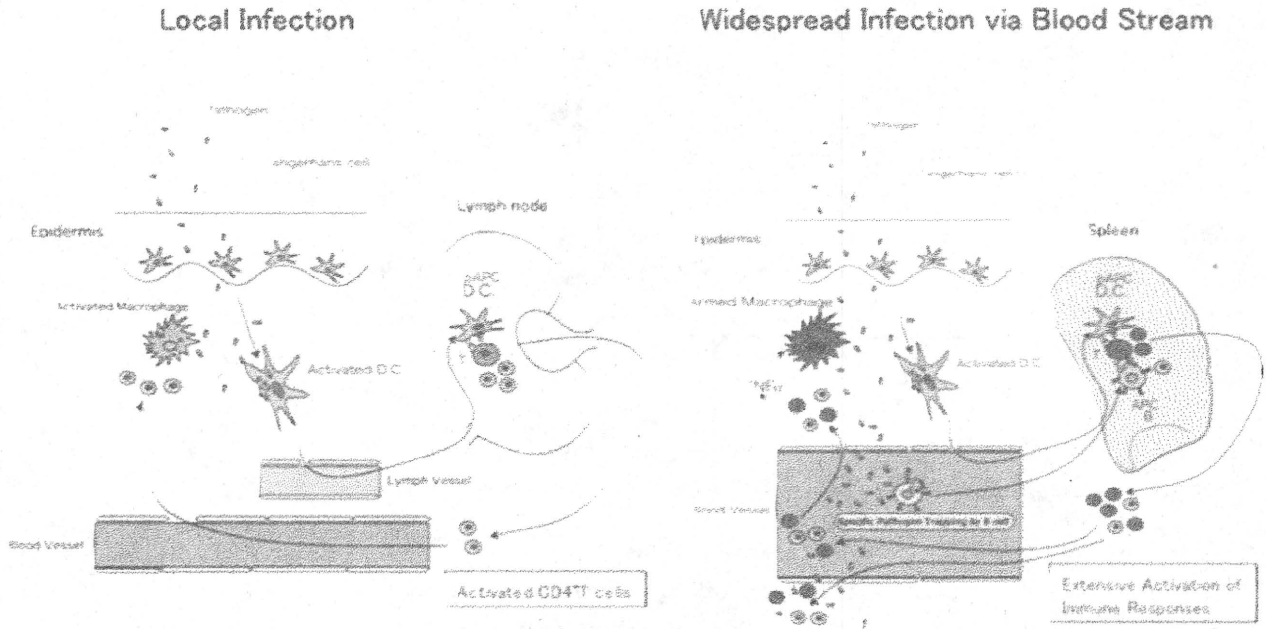


Fig. 1. A paradigm for the role of B cells in regulating the magnitude of T-cell immune response against widespread pathogenic infection. When a local dermal infection occurs, it can be overcome by taking up the pathogen with pAPC such as Langerhans cells at the site of infection. Langerhans cells migrate to regional lymph nodes via the afferent lymphatics, to activate reactive CD4⁺T cells. The activation of specific immune responses directed against the pathogen will then in

turn control the local infection (left panel). In contrast, when a more severe infection develops, pathogens spread throughout the bloodstream. B cells capture the pathogens in the blood via their specific antigen receptors (surface immunoglobulins), then present the specific antigen to T cells in the spleen, thus increasing the extent of T-cell immune responses against systemic infection (right panel). DC, dendritic cells

professional pAPC, such as the Langerhans cells in the skin, but not the body, function at the entry site of infection. As an example, when local dermal infection occurs, the professional antigen presenting Langerhans cells trap the pathogen. This is followed by migration to regional lymph nodes via afferent lymphatics, and presentation of specific antigen to CD4⁺T cells, resulting in activation of pathogen-reactive T cells. The reactive T cells in turn move to the site of local infection and work to control it via their specific functions, inducing local inflammatory immune responses and leading to the resolution of local skin infection (Fig. 1, left panel) (10). In contrast, when infection spreads throughout the bloodstream, B cells specifically capture the pathogen in the blood, and this is followed by activation of B cells through B cell receptor signaling pathways associated with increased expression of MHC class II antigens and co-stimulatory signals such as CD80/86 molecules (11). The antigen-stimulated B cells then travel to the spleen and present specific antigens of the pathogen to T cells. This is followed by extensive activation of CD4⁺T cells, possibly associated with enlargement of the spleen, thereby contributing to the overall extent of immune re-

sponse (12) (Fig. 1, right panel). Thus, enhanced immune responses work to control severe systemic infection.

Similarly, B cells may enhance exacerbation of autoimmunity as well as influence control of widespread infection. Intact cells are injured by many agents, including environmental factors such as viruses and toxins, autoreactive T cells, and inflammatory chemokines, cytokines, and chemical mediators (8). These damaged cells release autoantigens into the blood. This is followed by capture of autoantigens by autoreactive B cells, which then present autoantigens to autoreactive T cells, mainly in the spleen, thus increasing the extent of specific T-cell mediated autoimmunity (Fig. 2), which is associated with pathogenic T cell receptor clonotype spreading (13), as well as enhancing production of autoantibodies by B cells. B cells may also produce pathogenic cytokines (8, 9) (not shown). The resultant extensive proliferation and activation of autoreactive T cells produces profound T cell mediated autoreactivity, resulting in enhanced deterioration of target cells. This, together with the increased production of autoantibodies, creates a vicious cycle of exacerbated autoreactivity and target cell injury at the site of autoimmunity (Fig. 2).

B cell dependent immunoregulation

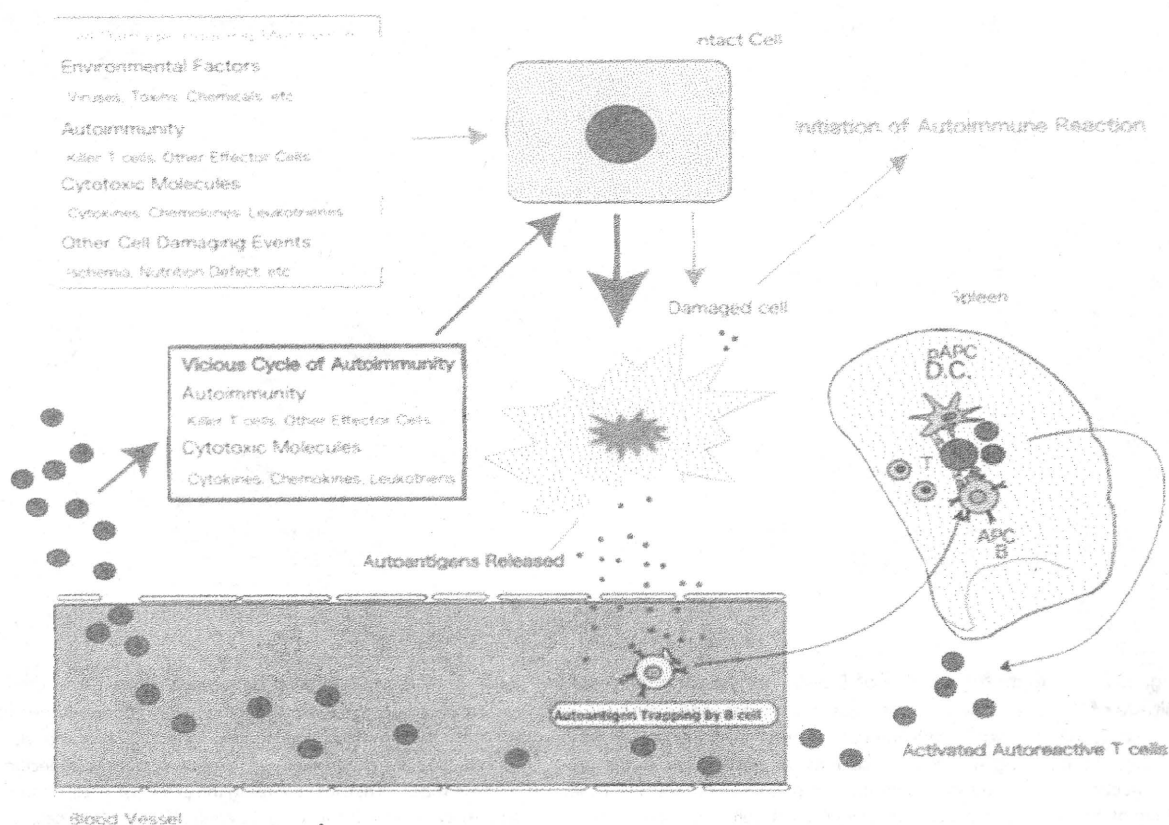


Fig. 2. A paradigm for the role of B cells in the exacerbation stage of autoimmunity. Intact cells may be damaged by various agents. These include environmental factors such as viruses, toxins, and chemicals; autoimmunity due to autoreactive cytotoxic T cells, and other effector cells as NK cells and macrophages; cytokines, chemokines and leukotrienes as mediators; and other cell damaging events such as ischemia and nutritional defects. These triggering factors may damage the cells, and lead to the induction of an autoimmune reaction. In the exacerbation stage

of autoimmunity, a large amount of autoantigens may be released into the blood and be captured by autoantigen-specific B cells. This may be followed by presentation of the antigen to CD4 positive autoreactive T cells. Thus, extensive proliferation of autoreactive T cells occurs in the spleen (figure), as well as stimulation of B cells, which leads to enhanced production of autoantibodies (not shown in the figure). The vicious cycle may proceed to an out-of-control state of autoimmune reaction.

The cycling can be blocked by elimination of autoreactive B cells. As described above, the effectiveness of rituximab has consistently been reported in many autoimmune diseases (1–4, 6–8). However, it should be emphasized that, even in the absence of development of clinical diabetes in B cell-depleted NOD mice (14–16), the presence of minimal but distinct insulinitis has been observed, suggesting that B-cell depletion can not entirely prevent the development of autoimmunity.

During B-cell depletion therapy, clinical safeguards should include careful monitoring for adverse reactions including allergy, neutropenia and infections (17–19). Indeed, in the absence of B cells, innate immunity dependent on residual pAPC such as dendritic cells, and minimal but distinct T cell reactivity, continue to protect against local

infection, with fewer associated infections (10, 12). Moreover, after elimination of B cells, antibodies which protect against infection may be supplied by administering human immunoglobulins, thus reducing the risk of occurrence of infectious complications (20).

Thus, treatment with B-cell depletion therapy should be capable of stopping the vicious cycle of the out-of-control stage of autoimmunity. However, achieving complete recovery by elimination of autoreactive T cells may be difficult. To accomplish long-lasting resolution of autoimmune diseases, another effective therapy to regulate T cell dependent autoimmunity is required in addition to B-cell depletion therapy.

In conclusion, B cells play an important role in resistance against widespread infection by increasing the extent

of immune responses and by presenting pathogen specific antigen to T cells, followed by enhancement of appropriate defensive immunity. Conversely, B cells work as "rascals" in the exacerbation stage of autoimmunity through presenting autoantigens to autoreactive T cells, resulting in autoimmunity going out of control. Recognition of this paradigm for the role of B cells in regulating the magnitude of immune response will help to facilitate both basic and clinical research on the regulation of immune responses.

REFERENCES

- Dörner T., Radbruch A., Burmester G.R. (2009) B-cell-directed therapies for autoimmune disease. *Nat Rev Rheumatol* 5: 433–41.
- Levesque M.C. (2009) Translational mini-review series on B cell-directed therapies: recent advances in B cell-directed biological therapies for autoimmune disorders. *Clin Exp Immunol* 157: 198–208.
- Mease P.J. (2008) B cell-targeted therapy in autoimmune disease: rationale, mechanisms, and clinical application. *J Rheumatol* 35: 1245–55.
- Pescovitz M.D., Greenbaum C.J., Krause-Steinrauf H., Becker D.J., Gitelman S.E., Goland R., et al. (2009) Rituximab, B-lymphocyte depletion, and preservation of beta-cell function. *N Engl J Med* 361: 2143–52.
- Suarez-Pinzon W.L., Rabinovitch A. (2001) Approaches to type 1 diabetes prevention by intervention on cytokine immunoregulatory circuits. *Int J Exp Diab Res* 2: 3–17.
- Silverman G.J., Boyle D.L. (2008) Understanding the mechanistic basis in rheumatoid arthritis for clinical response to anti-CD20 therapy: the B-cell roadblock hypothesis. *Immunol Rev* 223: 175–85.
- Sanz I. (2009) The conundrum of B cell depletion in SLE. *Nat Rev Rheumatol* 5: 304–5.
- Schlomchik M.J. (2009) Activating systemic autoimmunity: B's, T's, and tolls. *Curr Opin Immunol* 21: 626–33.
- Lund F.E. (2008) Cytokine-producing B-lymphocytes-key regulators of immunity. *Curr Opin Immunol* 20: 332–338.
- Armed R., Carvone F., Ley T., O'Garra A., Reiner S., Schreiber R., et al. (2008) Dendritic cells process antigen from a wide array of pathogens. In: Murphy K., Travers P., Walport M., eds. *Janeway's Immunobiology*, 7th edn. New York and London: Garland Science, pp. 334–6.
- Jaiswal A.I., Croft M. (1997) CD40 ligand induction of T cell subsets by peptide-presenting B cells. *J Immunol* 159: 2282–91.
- Nagafuchi S., Katsuta H., Anzai K. (2010) Rituximab, B-lymphocyte depletion, and beta-cell function. *N Engl J Med* 362: 761.
- Kondo S., Iwata I., Anzai K., Akashi T., Wakana S., Ohkubo K., et al. (2000) Suppression of insulinitis and diabetes in B cell-deficient mice treated with streptozocin: B cells are essential for T cell receptor clonotype spreading in islet-infiltrating T cells. *Int Immunol* 12: 1075–83.
- Akashi T., Nagafuchi S., Kitamura D., Anzai K., Wang J., Taniuchi I., et al. (1977) Direct evidence for the contribution of B cells to the progression of insulinitis and the development of diabetes in non-obese diabetic mice. *Int Immunol* 9: 1159–1164.
- Hu Cy., Rodriguez-Pinto D., Du W., Ahuja A., Henegarju O., Wong F.S., et al. (2007) Treatment with CD20-specific antibody prevents and reverses autoimmune diabetes in mice. *J Clin Invest* 117: 3857–67.
- Xiu Y., Wong C.P., Bounaziz J.D., Hamaguchi Y., Wang Y., Pop S.M., et al. (2008) B lymphocyte depletion by CD20 monoclonal antibody prevents diabetes in non-obese diabetic mice despite isotype-specific differences in FcγR effector functions. *J Immunol* 180: 2863–75.
- Barnadas M.A., Roe E., Brunet S., Garcia P., Bergua P., Pimentel L., et al. (2006) Therapy of paraneoplastic pemphigus with Rituximab: a case report and review of literature. *JEADV* 20: 69–74.
- Lutt J.R., Pisculli M.L., Weinblatt M.E., Deodhar A., Winthrop K.L. (2008) Severe nontuberculous mycobacterial infection in 2 patients receiving Rituximab for refractory myositis. *J Rheumatol* 35: 1683–86.
- Laubach J., Bawn S.D., Gordon L.I., Winter J.N., Furman R.R., Vose J.M., et al. (2009) Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in HIV-negative patients: a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Blood* 113: 4834–40.
- Bayry J., Lacroix-Desmazes S., Kazatchkine M.D., Kaveri S.V. (2004) Intravenous immunoglobulin for infectious diseases: back to the pre-antibiotic and passive prophylaxis era?. *Trends Pharmacol Sci* 25: 305–10.