

図 1 T 細胞サブセットのまとめ

T 細胞サブセットの誘導に関与する因子および T 細胞サブセットが産生するサイトカイン, 必須の転写因子の関係を図示した。

た<sup>6)</sup>。また, IBD 病巣から分離したリンパ球において, Th17 細胞の増加が認められ<sup>7)</sup>, 一塩基多型解析から IL-23 受容体の遺伝子変異がクローン病の危険因子であると報告されている<sup>8)</sup>。以上の結果から, 自己免疫性あるいは慢性炎症性疾患において, Th17 細胞が病態形成に重要な役割を果たしていることが推測されている。

### ● Th17 細胞分化制御機構

マウスでは, ナイーブ T 細胞を TGF-β 存在下で刺激すると制御性 T 細胞 (induced T regulatory cells : iTreg とよばれる) へ分化するが, IL-6 と TGF-β 存在下で刺激すると Th17 細胞へ分化する (図 1)<sup>9)</sup>。IL-6 の有無によって, Th17 細胞または iTreg への分化誘導が決定づけられることはきわめて重要である。Th1 細胞, Th2 細胞, および iTreg 細胞のそれぞれの分化には, T-bet, GATA-3, Foxp3 という転写因子が必須の役割を果たしていることが証明されていたが, Th17 細胞分化においては RORγt が必須の転写因子であることが判明した<sup>10)</sup>。このほかにも Th17 細胞分化に影響を与える因子として, ビタミン A 代謝産物であるレチノイン酸 (retinoic acid) は, TGF-β による Foxp3 発現を促進することで, iTreg 細胞への分化を促進し,

Th17 細胞分化を抑制する<sup>11)</sup>。なお, 当初 Th17 細胞分化に重要と考えられた IL-23 は, 分化自体には関与せず, Th17 細胞の維持あるいは増殖に重要であると考えられている。

マウス Th17 細胞の研究にならい, ヒト Th17 細胞の特徴や分化機構に関する解析も盛んに行われている。Acosta-Rodriguez らとわれわれ<sup>12,13)</sup> は, ヒト Th17 細胞が特異的に発現するケモカイン受容体の存在を明らかにした。なお, *in vitro* での Th17 細胞分化機構に関しては, マウスとヒトでの違いが報告されており, ヒト Th17 細胞研究におけるヒト材料を用いた独自の研究の重要性が示唆される。

### ● T 細胞サブセットの広がり, Th9 細胞

最近になって, ナイーブ T 細胞を TGF-β と IL-4 存在下で培養すると, IL-9 を産生する T 細胞が誘導されることが発見され, この IL-9 産生細胞を Th9 細胞と命名することが提唱された<sup>14,15)</sup>。IL-9 は, 制御性 T 細胞と Th2 細胞が産生するサイトカインで, 肥満細胞の分化を促進する作用と, 好酸球を炎症局所へ遊走させる働きが報告されている。当初, この T 細胞サブセットは, 動物モデルの IBD および末梢神経炎を増悪させる可能性が示唆されたが, その後制御性 T 細胞機能の増強を介して中枢神経炎

症を軽減する働きも報告されており、その役割については今後の検討が必要であると考えられる。また、ヒト皮膚から分離されたメモリー T 細胞中に、IL-22 産生能を有し、IL-17 あるいは IFN- $\gamma$  を産生しない T 細胞サブセットも報告されており、乾癬病態での重要性が注目されている<sup>16)</sup>。今後も新しい T 細胞サブセットが発見される可能性がある。

## ● まとめ

自己免疫および慢性炎症性疾患の病態研究では、Th17 細胞解析は最も重要な分野のひとつとなっている。自己免疫疾患の新規治療法の確立には、今後も T 細胞サブセットの分化機構研究が重要であると考えられる。

## 文献

- 1) Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004 ; 21 : 467-76.
- 2) Zheng Y, Danilenko DM, Valdez P, et al. Interleukin-22, a T (H) 17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature* 2007 ; 445 : 648-51.
- 3) Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature* 2003 ; 421 : 744-8.
- 4) Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, et al. Divergent pro- and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2003 ; 198 : 1951-7.
- 5) Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol* 2007 ; 8 : 950-7.
- 6) Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, et al. A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. *N Engl J Med* 2007 ; 356 : 580-92.
- 7) Rovedatti L, Kudo T, Biancheri P, et al. Differential regulation of interleukin 17 and interferon  $\{\gamma\}$  production in inflammatory bowel disease. *Gut* 2009 ; 58 : 1629-36.
- 8) Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006 ; 314 : 1461-3.
- 9) Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006 ; 441 : 235-8.
- 10) Ivanov, II, McKenzie BS, Zhou L, et al. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+T helper cells. *Cell* 2006 ; 126 : 1121-33.
- 11) Mucida D, Park Y, Kim G, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science* 2007 ; 317 : 256-60.
- 12) Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, et al. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat Immunol* 2007 ; 8 : 639-46.
- 13) Sato W, Aranami T, Yamamura T. Cutting edge : Human Th17 cells are identified as bearing CCR2+ CCR5- phenotype. *J Immunol* 2007 ; 178 : 7525-9.
- 14) Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, et al. Transforming growth factor- $\beta$  'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol* 2008 ; 9 : 1341-6.
- 15) Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, et al. IL-4 inhibits TGF- $\beta$ -induced Foxp3+T cells and, together with TGF- $\beta$ , generates IL-9+IL-10+Foxp3 (-) effector T cells. *Nat Immunol* 2008 ; 9 : 1347-55.
- 16) Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, et al. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol* 2009 ; 10 : 857-63.

# NKT細胞と 多発性硬化症

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）

山村 隆（国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部部長）

## P o i n t

- iNKT細胞は、TCRとしてインバリアントな $\alpha$ 鎖を発現し、限られたV $\beta$ 遺伝子と会合するためTCRの可変性が乏しく、またMHC class I類似の多様性のないCD1d分子に提示された糖脂質を抗原として認識する。
- iNKT細胞の機能的な特徴は、TCRを介した刺激によりIL-4、IFN- $\gamma$ 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である。
- 自己免疫疾患においてiNKT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、多発性硬化症の寛解期においてiNKT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。
- iNKT細胞のリガンドである $\alpha$ -ガラクトシルセラミドの変異体を用いて、iNKT細胞を標的とした自己免疫疾患治療に注目が集まっている。
- MAIT細胞は第二のインバリアントNKT細胞として注目されている。MHC class I類似のMR1分子が分化に関与し、粘膜に多く存在する。マウスの多発性硬化症モデルでは、病態抑制に関与することが報告されている。

多発性硬化症(multiple sclerosis ; MS)は、自己の髄鞘抗原を標的とする自己免疫疾患と考えられている。MSは、一般に再発と寛解を繰り返す疾患であり、その病態の変化には免疫調節細胞の役割が注目されている。

NKT(natural killer T)細胞は、NKマーカーを有するT細胞の総称で、エフェクター作用と免疫抑制作用を合わせもつ多機能性の細胞である。拘束される抗原提示分子や、抗原特異性、抗原を認識するT細胞受容体(TCR)の可変性などによって、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(図1)。そのなかで、CD1拘束性でTCR $\alpha$ 鎖に可変性のないinvariant鎖(マウスではV $\alpha$ 14J $\alpha$ 18、ヒトではV $\alpha$ 24J $\alpha$ 18)を発現するiNKT(invariant NKT)細胞の解析が最も進んでいる<sup>1)</sup>。CD1拘束性で通常のTCRを発現する細胞はタイプII NKT細胞とよばれ、iNKT細胞とは異なる性質をもつことが報告されている<sup>2)</sup>。MR1(major histocompatibility molecule related 1)拘束性で、invariant鎖(マウスではV1914J $\alpha$ 33、ヒトではV $\alpha$ 7.2J $\alpha$ 18)を発現するT細胞も存在し、MAIT(mucosal-associated invariant T)細胞として研究が始まっている<sup>3)</sup>。本稿では解析の進んでいるiNKT細胞と最近解析が始まったMAIT細胞

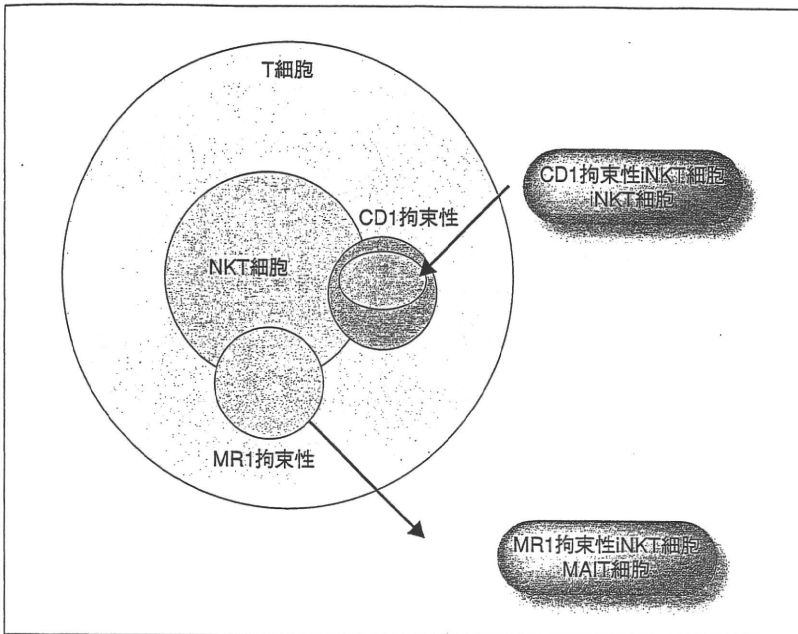


図1 iNKT細胞

NKT細胞は、NKマーカーをもつT細胞の総称である。そのなかで最も解析が進んでいるのは、invariant鎖(マウスではV $\alpha$ 14J $\alpha$ 18、ヒトではV $\alpha$ 24J $\alpha$ 18)を発現するiNKT細胞である。iNKT細胞は、CD1dによって抗原提示を受ける。CD1d拘束性であって、V $\alpha$ 14J $\alpha$ 18(マウス)もしくはV $\alpha$ 24J $\alpha$ 18(ヒト)を発現していない細胞も存在する。V $\alpha$ 14i以外でも、invariant鎖(ヒトではV $\alpha$ 7.2 $\alpha$ 33、マウスではV $\alpha$ 19J $\alpha$ 18)を発現するMAIT細胞の存在が知られている。

胞について、基礎的な解説とMSとの関連・それらの細胞を利用した治療法開発について概説する。

## iNKT細胞

### 1. iNKT細胞の特徴：抗原提示分子と抗原

iNKT細胞は、TCRとしてインバリアントな $\alpha$ 鎖を発現し、限られたV $\beta$ 遺伝子(マウスではV $\beta$  8.2、V $\beta$  7、V $\beta$  2、ヒトではV $\beta$  11)と会合するため、TCRの可変性が乏しく、また主要組織適合遺伝子複合体(major histocompatibility complex；MHC) class I類似の多様性のないCD1d分子に提示された糖脂質を抗原として認識するユニークな細胞集団である<sup>1)</sup>(図2)。抗原受容体の可変

性に乏しく、クローン性の増殖を必要とせず組織に多数存在してすぐに反応を開始できることなどから、iNKT細胞は自然免疫系と獲得免疫系の中間的存在として、さまざまな免疫の初期応答や調節に関与する。糖脂質を抗原として認識することが特徴であり、微生物などに由来する抗原と、内因性の抗原が報告されている。これまで内因性抗原としては、ガングリオシドGD3、glycosylphosphatidylinositol(GPI)、phosphoethanolamine(PE)などが報告され、最近イソグロボシド(iGb3)が有力な抗原として示されたが、いずれも確定されていない。一方、外来抗原としては、leishmania由来のglycoinositol phospholipids(GIPLs)やlipophosphoglycan(LPG)、sphingomonas由来のglycosphingolipid(GSL)などが報告されている。

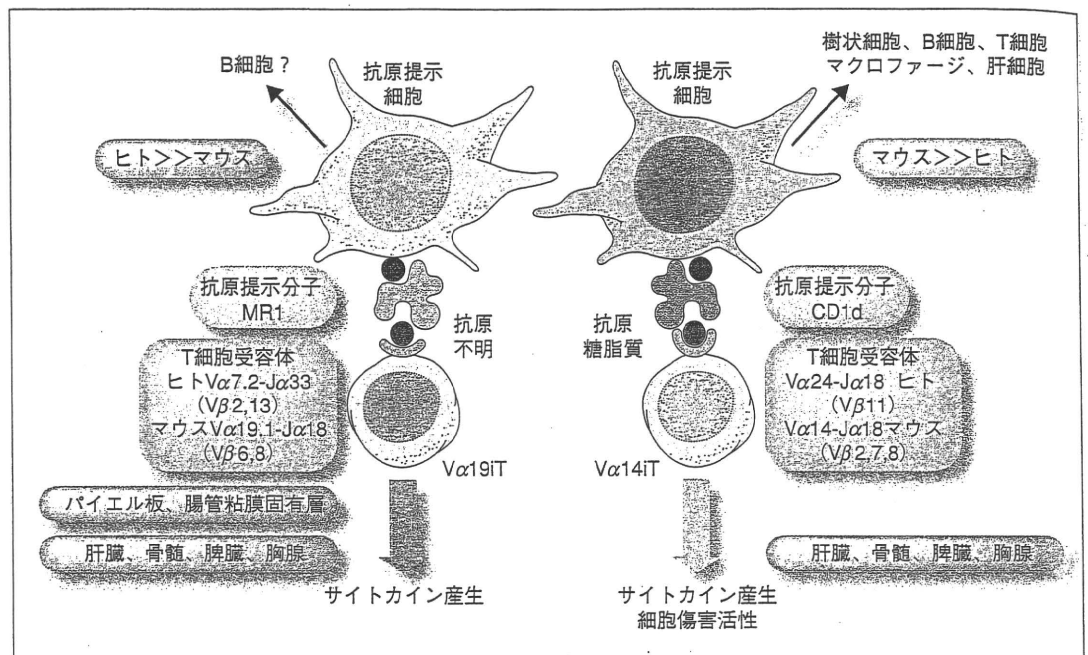


図2 iNKT細胞とMAIT細胞の比較

iNKT細胞は、ヒトではVa24Jα18、マウスではVa14Jα18の invariant 鎖を発現し、CD1dによって提示された糖脂質を抗原として認識する。ヒトではVa7.2α33、マウスではVa19Jα18の invariant 鎖を発現するT細胞は、腸管関連リンパ組織に多く分布することから、mucosal associated invariant T(MAIT)細胞とよ

ばれる。その分化はMR1分子や腸内細菌叢に依存する。iNKT細胞とMAIT細胞は、T細胞受容体の可変性が乏しいことや、Class Ib分子に抗原提示されることなどは類似しているが、ヒトとマウスでの頻度や、細胞の分布については相違がある。

はじめに同定された抗原が合成糖脂質であったことから、これまでiNKT細胞の研究には主にα-ガラクトシルセラミド(α-GC)などの合成糖脂質が用いられてきた。iNKT細胞の機能を研究するだけでなく、α-GCは抗がん剤として治験が進められているほか、α-GCの構造をもとにして、さまざまな糖脂質を合成してiNKT細胞からの特定の機能を強く引き出す糖脂質を探索するという研究も進められている。

## 2. iNKT細胞の機能的特徴

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(IL-2,-3,-4,-5,-10,-13,17,-21,-22、GM-CSF、TGF-β、オステオポンチン)を短時間で大量に産生することである。iNKT細胞は、マウスに抗CD3抗体を投与すると、数時間後に血中でIL-4の上昇がみられるが、iNKT細胞はその際のIL-4の主要な産生細胞である。細胞あたりのサイトカイン産生能としても、iNKT細胞は*in vitro*で分化させたTh1、Th2細胞に匹敵するIFN-γ、IL-4産生能をもつ。また、IL-17を自身で産生するほか、IL-17を産生するTh17細胞の調節にも関与することが報告されている。iNKT細胞が活性化されると、NK細胞

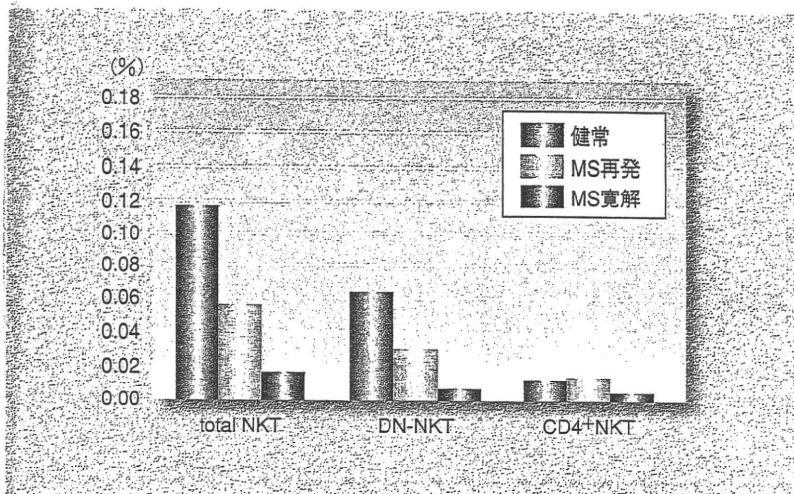


図3 多発性硬化症(MS)患者末梢血におけるiNKT細胞の頻度

iNKT細胞は、MS寛解期において健常人と比較してその頻度が減少している。MS再発時にはさらに減少している。この減少は、主にdouble negative NKT細胞の減少によると考えられる。

胞でのIFN- $\gamma$ 産生が高まったり、B細胞の活性化マーカーが上昇する、樹状細胞を活性化する、またCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T細胞を介して免疫抑制を行うなど、多くの細胞に影響を与えて免疫反応を修飾する。iNKT細胞は、CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>(DN)と、CD4<sup>+</sup>の細胞があるが、ヒトではDNがマウスではCD4<sup>+</sup>が多い。特にヒトでは、サブセットによるサイトカイン産生パターンが異なることが示されている。刺激によって、DN-iNKT細胞はIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ といったTh1サイトカインや細胞傷害活性に関与する蛋白を発現するが、CD4陽性細胞はそれらに加えてTh2サイトカインを産生する。生体内でこれらのサイトカイン産生は、状況に応じて調節されているようである。細菌感染などによってIL-12が上昇する環境では、iNKT細胞は外来抗原の刺激が存在しなくともTh1サイトカインを選択的に産生するという報告がある一方、喘息患者の肺胞洗浄液中のiNKT細胞はIL-4やIL-13といったTh2サイトカインを選択的に産生していることが報告されている。また、抗原提示細胞の

種類や共刺激の違いによってもiNKT細胞の反応は異なる。樹状細胞がiNKT細胞からTh1、Th2を強く誘導する一方、肝細胞、消化管上皮細胞、皮膚上皮細胞などはTh2サイトカインを弱く誘導する。これらのnon-professionalな抗原提示細胞は共刺激分子を欠くが、professionalな抗原提示細胞でも共刺激を阻害すると同様な効果がみられる。肝臓、消化管、皮膚などは、常に外界からの抗原刺激にさらされるために、過剰な免疫応答による炎症を抑制する機構にiNKT細胞も貢献している可能性が考えられる。

### 3. 多発性硬化症におけるiNKT細胞

MSでは、寛解期にある患者では、健常人と比較して減少しているが、再発期にはiNKT細胞の減少はむしろ軽度になる。減少しているのはDN-iNKT細胞であり、CD4<sup>+</sup>iNKT細胞は寛解期、再発時ともに減少していなかった(図3)。サイトカイン産生に関しては、DN-iNKT細胞では寛解期にIL-4、IFN- $\gamma$ ともに産生の低下がみられた

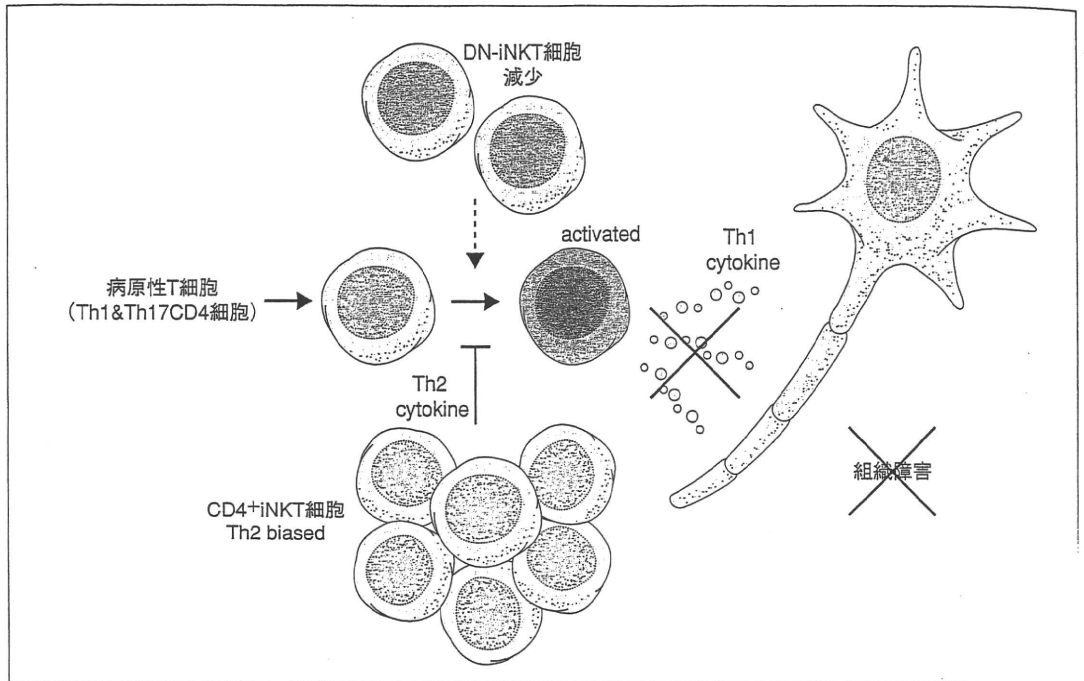


図4 多発性硬化症におけるNKT細胞の役割に関する仮説

MSでは、Th1、サイトカインを産生するDN-iNKT細胞は減少しているが、CD4<sup>+</sup>iNKT細胞は比較的保たれている。このCD4<sup>+</sup>iNKT細胞は、健康人よりTh2サイトカイン産生が増強している。

これらの機序により、病原性T細胞の抑制が行われていると考えられている。

が、CD4<sup>+</sup>iNKT細胞では寛解期にむしろIL-4の産生亢進がみられた<sup>4)</sup>。実際に、自己免疫疾患においてiNKT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- $\gamma$ などのサイトカインを産生するDN-iNKT細胞数やサイトカインが減少し、残存しているCD4<sup>+</sup>iNKT細胞のIL-4産生能が上昇していることから、MS寛解期においてiNKT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(図4)。多発性硬化症モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE)では、病態抑制に関与するという報告と悪化するという報告がある。

最近、iNKT細胞は腸管細菌の変化を感知し、EAEの病態を左右することが示された<sup>5)</sup>。iNKT細胞は、腸内細菌やその他の環境因子の変化によって自己免疫病態に与える影響が異なってくる可能性もある。

#### 4. 糖脂質抗原による多発性硬化症モデル病態の制御

iNKT細胞のリガンドである $\alpha$ -GCもしくはその変異体を用いて、iNKT細胞を標的とした自己免疫疾患治療に注目が集まっている<sup>6,7)</sup>。われわれはEAEにおいてiNKT細胞を標的とした治療法の開発を行っていたが、自験データでは $\alpha$ -GCの

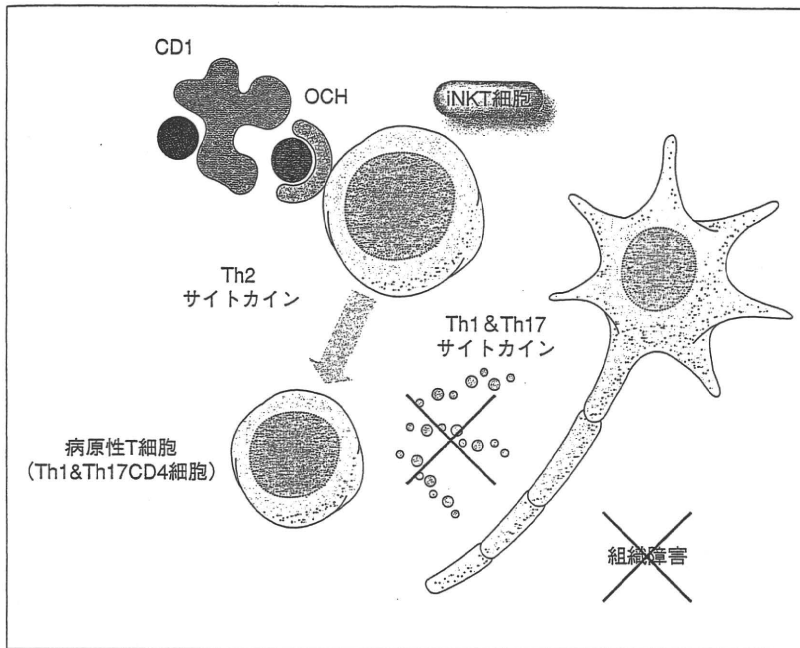


図5 糖脂質抗原投与による自己免疫抑制

OCHは、 $\alpha$ -GCのスフィンゴシン鎖の短縮体であり、Th2サイトカイン産生を選択的に誘導し、MSなどの自己免疫を抑制する。

投与は効果がなかった。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の結果、 $\alpha$ -GCがEAEに無効である理由は、iNKT細胞を強く刺激するため、病態抑制的のものと同時に病態悪化につながるさまざまなサイトカインの産生を促すためであると考えられた。そこで、iNKT細胞に選択的にIL-4産生を促してEAEを抑制するような糖脂質リガンドを探索した結果、 $\alpha$ -GCのスフィンゴシン鎖を短縮した糖脂質であるOCHがこのような性質をもつことがわかった<sup>6)</sup>。OCHはiNKT細胞を刺激して、IL-4を選択的に産生させることによって、自己抗原応答性をTh2に偏倚させ、Th1 & Th17病であるEAEを抑制する(図5)。OCHは、NODマウスによる糖尿病を抑制するほか、 $\alpha$ -GCでは効果の弱いコラーゲン関節炎にも抑制効果がある。

## MAIT細胞

### 1. MAIT細胞の特徴

V $\alpha$ 7.2i T細胞は、ヒトのDNT細胞を解析するなかで、V $\alpha$ 24i T細胞とともにインバリエント鎖をもつT細胞として報告された<sup>8)</sup>。その後、LantzらのよりマウスホモログであるV $\alpha$ 19i T細胞は、腸管粘膜固有層やパイエル板に多く存在する細胞として、MAIT細胞として報告された<sup>3)</sup>。Lantzらは、MAIT細胞の発生がMHC class I b分子であるMR1ならびにB細胞に依存することを明らかにした。一方Shimamuraらは、CD1dノックアウトマウスでは数は激減するものの、NK1.1陽性T細胞が肝臓に残存していることから、肝由来NKT細胞ハイブリドーマのTCR解析を行い、その約半数(21中11)がV $\alpha$ 19i TCRを発現していること



を報告した。MAIT細胞の発生は、transporters associated with antigen processing (TAP)非依存性であるが、抗原がペプチドなのか、iNKT細胞のように糖脂質のような非蛋白質由来のものなのかについては、今後の解析が待たれるところである。MAIT細胞は、無菌環境飼育では存在しないことから、iNKT細胞のように自己抗原を認識するよりも、腸内細菌由来の外来抗原を主に認識する可能性がある。これら現時点で報告されているMAIT細胞の特徴についてiNKT細胞と比較しながらシェーマ図で示す(図2)。

## 2. MAIT細胞の特徴

V $\alpha$ 19i T細胞の機能については報告がなく、生体内での役割についてはよくわからなかった。腸管粘膜関連リンパ組織以外にも、MSなどの自己免疫性疾患の局所にも浸潤がみられることから<sup>9)</sup>、自己免疫への関与を考え、マウスモデルを用いて検討した<sup>10)</sup>。MAIT細胞を解析するツールとして、抗体を含めてこの細胞を特異的に同定する方法はまだないため、V $\alpha$ 19i TCRをトランスジェニックしてV $\alpha$ 19i T細胞を増加させたマウスと、V $\alpha$ 19i T細胞が存在しないMR1ノックアウトマウスを用いて解析した。

まず、V $\alpha$ 19i TCRトランスジェニックマウス(V $\alpha$ 19i TCR Tg)に、髄鞘蛋白であるmyelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)由来のペプチドを免疫することによってEAEを誘導すると、V $\alpha$ 19i TCR TgではEAEは野生型マウスと比較して軽症化した。マウスでは、NKT細胞としてはV $\alpha$ 14i T細胞が優位であるため、V $\alpha$ 19i T細胞の解析を容易にするために、V $\alpha$ 14i T細胞が存在しないCD1d $^{-/-}$ マウスにV $\alpha$ 19i TCRをトランスジェニックしたマウス(V $\alpha$ 19i TCR Tg/CD1d $^{-/-}$ )も使

用した。このマウスでは、トランスジェニック前は激減していた肝臓中のNKT細胞の頻度がほぼ野生型近くまで回復し、これらの細胞中では、real-time PCRで検討するとV $\alpha$ 19i T細胞がコントロールのCD1d $^{-/-}$ マウスと比較して大幅に増加していた。このマウスでEAEの病態を比較した場合も、病態は軽減した。さらに、V $\alpha$ 19i TCRTg/CD1d $^{-/-}$ マウスからNKT細胞(V $\alpha$ 14i T細胞が存在しないので、V $\alpha$ 19i T細胞が多く含まれると想定される)を移入すると、EAEは軽快した。一方、V $\alpha$ 19i T細胞が存在しないMR1ノックアウトマウスでは、EAEが増悪した。以上のことから、V $\alpha$ 19i T細胞はEAEを抑制する細胞であると考えられる。

T細胞のMOGに対するリコール反応を調べると、増殖反応はV $\alpha$ 19i TCR Tg/CD1d $^{-/-}$ マウスにおいてコントロールのCD1d $^{-/-}$ マウスと比較して差がみられず、EAEが軽症であるのはトランスジェニックによりT細胞のレパトアが変化し、MOG反応性T細胞が減少していることが原因ではないことが確認された。サイトカイン産生をみると、EAEの増悪に関与するIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-17などのサイトカインは減少し、EAEを抑制することが知られているIL-10が増加していた。IL-10の増加はEAEを誘導した脾臓B細胞でもみられた。V $\alpha$ 19i TCR Tg/CD1d $^{-/-}$ マウスのNKT細胞(V $\alpha$ 19i T細胞が多く含まれると想定される)と脾臓細胞を共培養すると、NKT細胞、CD4T細胞、CD8T細胞からもIL-10産生が増加し、特にB細胞からのIL-10産生が増加した。この共培養系では、ICOS(inducible T-cell co-stimulator)に対する抗体を添加するとB細胞からのIL-10産生が抑制されることから、ICOSを介した経路が重要であることが示唆された(図6)。

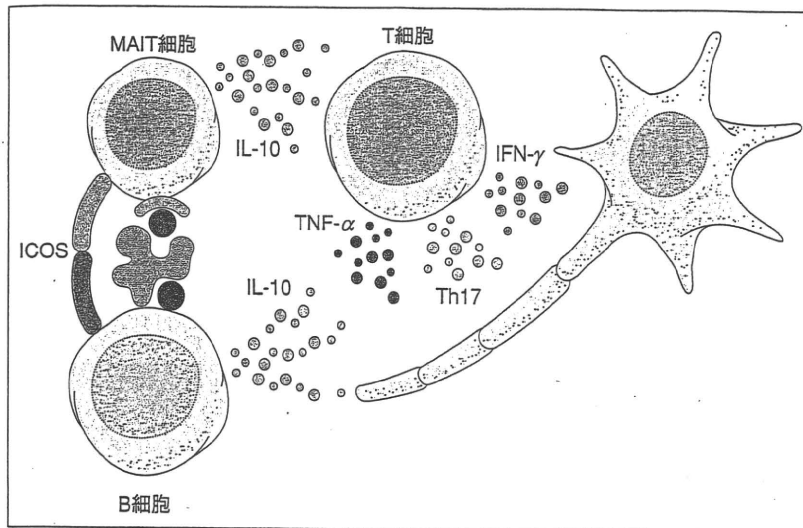


図6 MAIT細胞によるEAEの抑制機序

Vα19iT細胞受容体のトランスジェニックマウスでは、T細胞、B細胞からIL-10の産生が増加することによってEAEが抑制されると考えられる。実際の疾患における役割については、今後の検討が待たれる。

## おわりに

iNKT細胞もMAIT細胞も、生体防御の先端で機能し、外界変化のセンサーとして重要である。

MAIT細胞は、ヒトではマウスよりも頻度が高く、炎症組織への浸潤も確認されているため、さまざまな病態での動態、機能解析が望まれる。

## 文献

- 1) Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 297-336.
- 2) Terabe M, Berzofsky JA. The role of NKT cells in tumor immunity. *Adv Cancer Res* 2008; 101: 277-348.
- 3) Treiner E, Lantz O. CD1d- and MR1-restricted invariant T cells: of mice and men. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 519-26.
- 4) Araki M, Kondo T, Gumperz JE, Brenner MB, Miyake S, Yamamura T. Th2 bias of CD4<sup>+</sup> NKT cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol* 2003; 15: 279-88.
- 5) 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. *Am J Pathol* 2008; 173: 1714-23.
- 6) Miyamoto K, Miyake S, Yamamura T. A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing TH2 bias of natural killer T cells. *Nature* 2001; 413: 531-4.
- 7) Miyake S, Yamamura T. Therapeutic potential of CD1d-restricted invariant natural killer T cell-based treatment for autoimmune diseases. *Int Rev Immunol* 2007; 26: 73-94.
- 8) Porcelli S, Yockey CE, Brenner MB, Balk SP. Analysis of T cell antigen receptor (TCR) expression by human peripheral blood CD4-8-α/β T cells demonstrates preferential use of several Vβ genes and an invariant TCR α chain. *J Exp Med* 1993; 178: 1-16.
- 9) Illés Z, Shimamura M, Newcombe J, Oka N, Yamamura T. Accumulation of Vα7.2-Jα33 invariant T cells in human autoimmune inflammatory lesions in the nervous system. *Int Immunol* 2004; 16: 223-30.
- 10) Croxford JL, Miyake S, Huang YY, Shimamura M, Yamamura T. Invariant Vα19i T cells regulate autoimmune inflammation. *Nat Immunol* 2006; 7: 987-94.

## 病態と治療

## 神経疾患と炎症

## — 多発性硬化症を中心に —

千原典夫\* 山村 隆\*\*

## 要 旨

慢性炎症の役割がさまざまな神経疾患で推察されている。中でも多発性硬化症で代表される免疫性神経疾患では、T細胞やB細胞の介在する炎症病態がかなり詳細に解析されている。神経組織は血液組織関門により保護されているが、一方では神経細胞には十分な自己再生能がなく、その障害機序の解明と治療法の開発にはさまざまな因子を考慮しなければならない。本稿では多発性硬化症を中心に、炎症の介在する神経障害の機序や治療戦略について、最新の知見を紹介する。

## はじめに

慢性炎症の介在する神経疾患の病態では、神経組織が血液脳関門 (blood-brain barrier) や血液神経関門 (blood-nerve barrier) に守られていること、神経系で免疫機能を担うグリア細胞が他の臓器の免疫担当細胞とは異なる性質を示すこと、および神経変性過程が十分に理解されていないことなどに配慮する必要がある。本稿では代表的な慢性炎症性神経疾患として多発性硬化症 (MS) を取り上げ、最近の知見を解説する。

## 多発性硬化症 (MS)

MS は中枢神経内に多発性の炎症性病変を生じる疾患で、若年の女性に発症する傾向が強い。臨床的には永年にわたって再発と寛解を繰り返すが、徐々に神経変性が進行して車椅子生活を余儀なくされるケースもまれではない。我が国の患者数は30年前には1,000人程度であったが、現在では12,000人以上に増加し、近年の増加傾向が明らかである。MS は中枢神経系髄鞘に由来するミエリン抗原 (ミエリン塩基性タンパク質など) に反応するT細胞やB細胞が関与する自己免疫疾患である。

\* 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 免疫研究部

\*\* 同 部長

キーワード：多発性硬化症 (MS)，  
抗原特異的T細胞，ミクログリア，  
血液脳関門，神経変性

## 1. MS の病態に関する新しいモデル

## 1) 病変の始まり

MS の病変は脳室周囲、深部大脳白質、大脳皮質などに散在し、その大きさは顕微鏡で

ようやく観察できるレベルから、小指大、こぶし大までさまざまである。個々の病変の形成過程に関してはいまだ明らかでない部分が多いが、神経病理学の専門家は最近、初期の軽微な組織破壊と、それに引き続いて起こるミエリン抗原特異的T細胞の活性化による髄鞘破壊の2ステップに分けて考えることを提唱している(図1)<sup>1)</sup>。

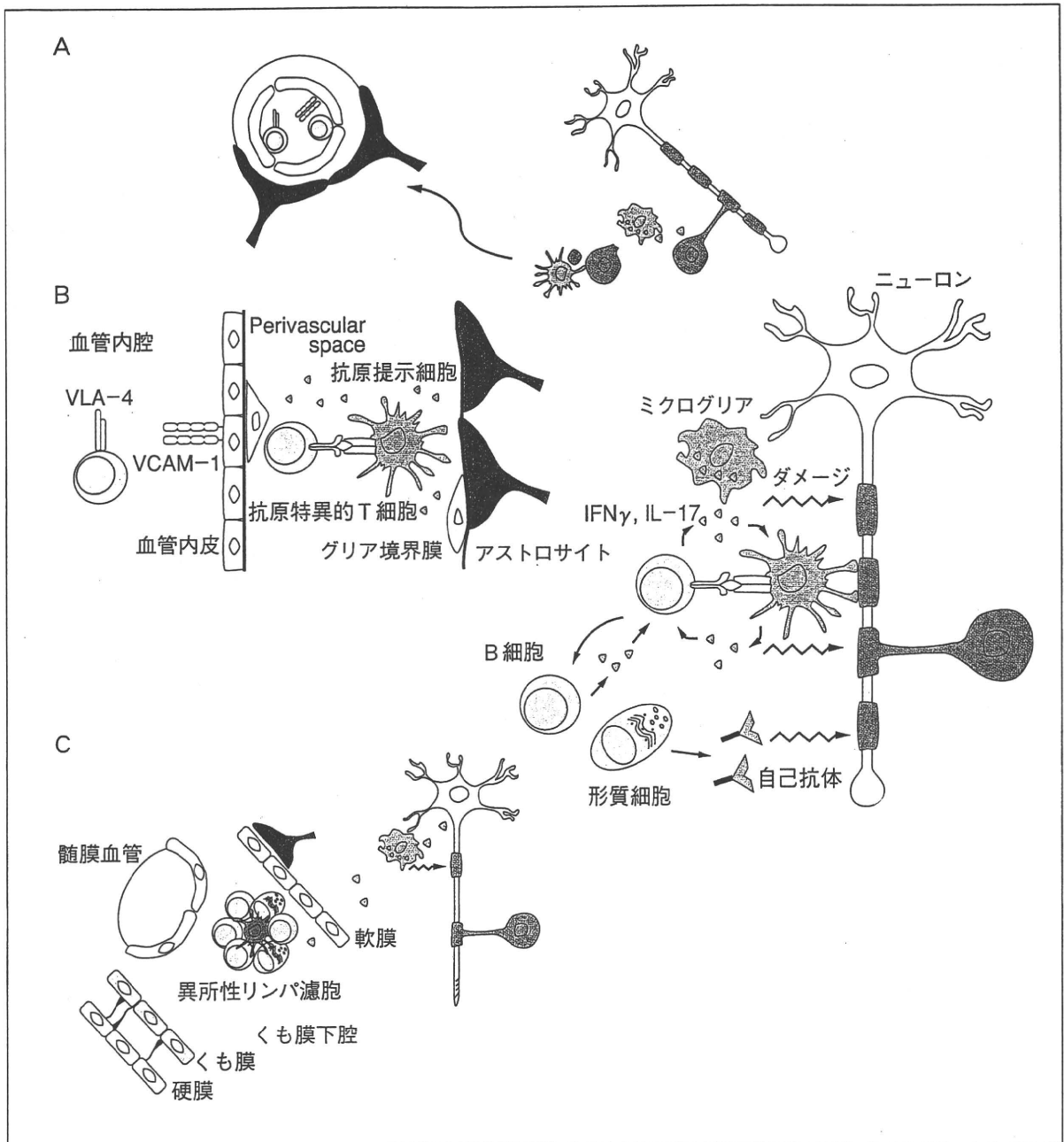
従来はT細胞浸潤および髄鞘崩壊が最も早期の病理的な変化とされていたが、2004年に Prineas らは、ミクログリアの活性化を伴うオリゴデンドロサイトのアポトーシス様細胞死が、髄鞘の崩壊する前に起こったと判断せざるを得ない症例を報告し、議論を巻き起こした<sup>2)</sup>。彼らの論文では、炎症細胞は血管周囲には認められたが、病変部にはほとんど存在しなかった。病変はたとえるなら、低酸素によって惹起される組織破壊像(脳梗塞病変)に極めて類似していた。興味あることに、同じような組織破壊像を示したMS病変において、他の研究者はミクログリアに発現した一酸化窒素合成酵素(iNOS)やミエロペルオキシダーゼ(MPO)を介したNOや活性酸素産生によってミトコンドリア障害が生じる可能性を指摘した<sup>3)</sup>。これらの病理学的な観察に基づいて、MSの病変は、まず血管周囲の炎症性細胞などから何らかの炎症性物質が中枢神経系内で放出され、その間接的作用によってミクログリアが過剰に活性化し、オリゴデンドロサイトのミトコンドリア障害を誘導して初期病変を作り、それに続いて破壊されたミエリン断片に反応した抗原特異的T細胞の活性化と大規模の髄鞘破壊が生じるという2ステップモデルが提唱されている。しかし、ミクログリアを活性化する原因はほかにもフィブリン、Toll-like receptor (TLR)のリガンド、感染など諸説あり、このモデルの妥当性についてはさらなる検証が必要と思われる。

## 2. 血液脳関門に関する研究の進歩

血液脳関門が存在するために、末梢で活性化された炎症細胞は中枢神経系の実質に容易には侵入することができない。血液脳関門は血管内皮とグリア境界膜(glia limitans)の2層構造からなり、グリア境界膜はアストロサイトの足突起と基底膜から構成される。炎症細胞が血管から血液脳関門を越えて中枢神経系に侵入する過程は、血流の中で血管内皮に接着し血管外のperivascular space(概念的にはくも膜下腔と同義)へ侵入する過程と、グリア境界膜を破壊して中枢神経実質に侵入する過程に分けられる。最初の過程ではリンパ球が血管内皮に接着するプロセスが必須であり、その際にはT細胞の発現する接着分子 $\alpha_4\beta_1$ インテグリン(VLA-4)と血管内皮の発現するVCAM-1の相互作用が重要である<sup>4)</sup>。また後の過程では、T細胞やその他の炎症細胞によって産生されるサイトカインやマトリックスメタロプロテアーゼが決定的な役割を果たす<sup>5)</sup>。

近年 Bartholomäus らは、二光子励起顕微鏡を用いて髄膜血管表面を移動するT細胞を観察し、ミエリン抗原特異的T細胞のみならず、中枢神経内には存在しない抗原(卵白アルブミン)に特異的なT細胞も血管内からくも膜下腔へ遊走することを示した。この結果は、活性化T細胞であれば、抗原特異性には関係なく血管外へ遊走することを意味する<sup>6)</sup>。しかし、ミエリン抗原特異的T細胞だけがグリア境界膜を越え、卵白アルブミン特異的T細胞は越えなかった。この理由として、ミエリン抗原特異的T細胞はくも膜下腔においてミエリン抗原によって再度活性化され、サイトカインやケモカインを産生するのに対して、卵白アルブミン特異的T細胞は抗原がないため再活性化されないからであることが分かった。実際、卵白アルブミンを人為的にくも膜下腔に添加すると、卵白アルブミン特異的T

図1 多発性硬化症 (MS) 病態の概念図



- A: 病変の始まり。ミクログリアによるオリゴデンドロサイトの障害で髄鞘タンパク質が細胞外へ溶出し、抗原提示細胞に貪食される。
- B: 初期病変。Perivascular space に浸潤した抗原特異的T細胞は、髄鞘タンパク質の提示を受けて再活性化し、中枢神経へと浸潤する。抗原特異的T細胞は、B細胞、マクロファージなどが介在する炎症の司令塔となり、髄鞘障害、神経障害を惹起する。
- C: 進行期病変。くも膜下腔に形成された異所性リンパ濾胞などに刺激を受けたミクログリアによる髄鞘、軸索障害が続く。

略語：巻末の「今月の略語」参照

細胞もグリア境界膜を越えることが証明された。

### 3. 治療に関する話題

#### 1) インターフェロン (IFN) 療法

ヘルパーT (Th) 細胞はT細胞, B細胞,

マクロファージなどがかわる獲得免疫の司令塔をつかさどっている。炎症を惹起する Th としては Th1 細胞と Th17 細胞の存在が知られていたが、最近では IL-9 を産生する Th9 細胞も炎症を惹起することが報告されている<sup>7)</sup>。一方、炎症を調節・抑制する細胞として、Th2 細胞、制御性 T 細胞、NK T 細胞などが知られている。現在、慢性期の MS に対する維持療法として、国内で使用できる薬剤は IFN $\beta$  に限られているが、IFN $\beta$  の薬効としては Th1 細胞と Th2 細胞のバランスを調整する機能などが知られている。しかし約半数の患者では有効性が認められず、特定の病態に対してはむしろ増悪させる可能性が示唆されてきた。最近、MS の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を用いて IFN $\beta$  の薬効メカニズムについて解析され、Th1 細胞で誘導した EAE には IFN $\beta$  が有効であるが、Th17 細胞で誘導した EAE では IFN $\beta$  投与によって逆に症状の増悪が見られることが報告された<sup>8)</sup>。さらに MS 患者末梢血を用いた解析により、IFN 療法に反応しない患者では治療前に Th17 の産生する IL-17F の血中濃度が高いことも示された。一連の解析結果は、MS の病態において Th1 細胞が病態形成に重要な場合と Th17 細胞が重要な場合が存在し、前者には IFN $\beta$  治療が有効であるが、後者ではむしろ病態を悪化させてしまう可能性を示唆している。

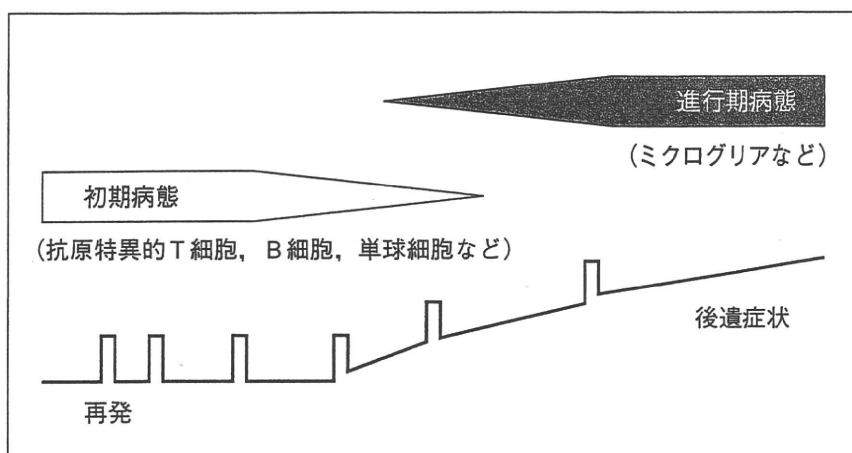
近年になって、従来 MS と診断されていた症例の中から、グリア境界膜を形成するアストロサイトの足突起に高発現するアクアポリン 4 (AQP4) に対する自己抗体が検出されることが分かった。このような症例は視神経脊髄炎 (NMO) の臨床病型をとるものに多く、MS とは区別して NMO spectrum disorder (NMOSD) と診断されるようになった。抗 AQP4 抗体はそれ自体がアストロサイト障害活性を有し、抗 AQP4 抗体陽性の症例

は通常の MS とは異なる<sup>9)</sup>。IFN $\beta$  治療は抗体産生を促進し、NMOSD を悪化させることがあるので、NMOSD には IFN $\beta$  を処方しないことが推奨されている。NMOSD は視神経・脊髄に炎症を繰り返す患者が多いが、中には通常の MS のように大脳病変を主体とするものもある。したがって臨床的に MS と診断されている場合でも、必ず抗 AQP4 抗体が陰性であることを確認してから治療方針を立てる必要がある。なお、NMO では髄液中の IL-17 タンパク質濃度が上昇することが報告されており<sup>10)</sup>、IFN $\beta$  治療による NMOSD の悪化は NMOSD における Th17 細胞の役割を意味している可能性がある。

## 2) その他の治療

現在、MS に対する分子標的療法の検討が進んでいる。病変へのリンパ球の輸送を標的とした治療として、抗 VLA-4 抗体療法 (ナタリズマブ) は T 細胞の血管内皮への接着を阻止して中枢神経へのリンパ球浸潤を防ぐ。S1P1 受容体に結合してリンパ節からのリンパ球の遊走を防ぐ薬剤 FTY720 (フィンゴリモド) も、MS の再発抑制効果を示した<sup>11)</sup>。リンパ球自体を標的とした治療としては、B 細胞を標的とした抗 CD20 抗体 (リツキシマブ) による B 細胞の除去療法が MS の再発を防ぐことが証明されている<sup>12)</sup>。抗 CD20 抗体で B 細胞を除去したマウスでは、ミエリン抗原による刺激を行っても抗原提示が十分になされず、抗原特異的な Th1 細胞や Th17 細胞の分化が抑制され EAE が軽快した<sup>13)</sup>。このことから、リツキシマブは主に B 細胞による抗原提示機能を抑制することによって効果を発揮するようである。成熟リンパ球、単球細胞や樹状細胞を標的とした抗 CD52 抗体 (アレムツズマブ) の再発抑制効果も報告されている。アレムツズマブは、末梢のリンパ球に神経保護因子である BDNF や PDGF の発現を誘導し、*in vitro* ではオリゴデンド

図2 多発性硬化症 (MS) 病態の変化



再発・寛解を繰り返す初期病態から、徐々に神経脱落症状が蓄積する進行期病態に移行する。初期はT細胞やB細胞を主とする獲得免疫が、進行期にはミクログリアなどの自然免疫が炎症の中心となる。

ロサイトの前駆細胞の生存や髄鞘形成を促進する。したがって、神経保護にもかかわっている可能性がある<sup>14)</sup>。

#### 4. 神経変性と炎症

抗炎症療法は発症早期の炎症病態に対する効果は得られるが、慢性期に緩徐進行する神経症状に対する効果は限定的である。さまざまな臨床的あるいは病理学的な解析によって、MSの初期には炎症病態が主体であるが、進行期には神経変性過程が主体になるとされてきた(図2)<sup>15)</sup>。しかし詳細に観察すると、神経変性の進行している病変部位ではミクログリアの活性化が著明であり、自然免疫の関与が示唆されている<sup>16)</sup>。

では、なぜ抗炎症療法はMSの進行期においては効果がないのか? さまざまな可能性が論議されているが、治療に反応しない慢性MSでは、血液脳関門が修復された状態で脳内深部に炎症が持続し、そのために薬剤が病変部位に移行しなくなっている可能性がある。また、髄膜下にリンパ濾胞様の構造物が形成されると<sup>17)</sup>、やはり末梢から投与した抗炎症薬が届かなくなる可能性がある。なお、アルツハイマー病や他の神経変性疾患と同様

に、MSの進行期病態においても酸化ストレスに伴うミトコンドリア障害の存在が示唆されている。初期病態と異なり、代償性のミトコンドリア数や酵素活性の増加は見られない。

神経変性の過程を明らかにする研究が必要であることは論を待たないが、神経保護や再生を促す治療法も視野に入ってきた。近年では、軸索成長阻害因子であるNogoや髄鞘阻害因子Lingo-1に対する阻害療法が、EAEにおいて軸索や髄鞘の再生を促進することが示された<sup>18)19)</sup>。現在盛んに行われているモノクローナル抗体療法が進行期にどのような影響を及ぼすかは今後の経過を追う必要があるが、同時に神経変性の抑制や再生を促す治療の発展が待たれる。

おわりに

MSに関する近年のトピックスを中心に病態と治療法について述べてきたが、その自己免疫機序や進行期病態など、いまだ明らかでない部分が多い。患者それぞれの病態に応じたテーラーメイド医療を確立するためにも、さらなる研究の進展が求められている。

神経障害を来す慢性炎症性疾患はほかにも、全身性エリテマトーデス、抗リン脂質抗体症

候群, ベーチェット病, サルコイドーシス, 慢性炎症性脱髄性神経根炎 (CIDP) などがあり, それぞれに特徴的な免疫病態が推測される. MS を role model として, これらの疾患でもさらなる病態の解明と治療法の開発が進むことが期待される.

#### 文 献

- 1) Lassmann H: What drives disease in multiple sclerosis: inflammation or neurodegeneration? *Clin Exp Neuroimmunol* 1: 2-11, 2010.
- 2) Barnett MH, et al: Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol* 55: 458-468, 2004.
- 3) Marik C, et al: Lesion genesis in a subset of patients with multiple sclerosis: a role for innate immunity? *Brain* 130: 2800-2815, 2007.
- 4) Agrawal S, et al: Dystroglycan is selectively cleaved at the parenchymal basement membrane at sites of leukocyte extravasation in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 203 (4): 1007-1019, 2006.
- 5) Ransohoff RM: Natalizumab for multiple sclerosis. *N Engl J Med* 356: 2622-2629, 2007.
- 6) Bartholomäus I, et al: Effector T cell interactions with meningeal vascular structures in nascent autoimmune CNS lesions. *Nature* 462: 94-98, 2009.
- 7) Dardalhon V, et al: IL-4 inhibits TGF- $\beta$ -induced Foxp3<sup>+</sup> T cells and, together with TGF- $\beta$ , generates IL-9<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>Foxp3<sup>-</sup> effector T cells. *Nat Immunol* 9 (12): 1347-1355, 2008.
- 8) Axtell RC, et al: T helper type 1 and 17 cells determine efficacy of interferon- $\beta$  in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis. *Nat Med* 16 (4): 406-412, 2010.
- 9) Wingerchuk DM, et al: The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol* 6: 805-815, 2007.
- 10) Ishizu T, et al: Intrathecal activation of the IL-17/IL-8 axis in opticospinal multiple sclerosis. *Brain* 128: 988-1002, 2005.
- 11) Kappos L, et al: A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 362 (5): 387-401, 2010.
- 12) Weber S, et al: B-cell activation influences T-cell polarization and outcome of anti-CD20 B-cell depletion in central nervous system autoimmunity. *Ann Neurol*: 2010. (in press)
- 13) Hauser SL, et al: B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med* 358 (7): 676-688, 2008.
- 14) Jones JL, et al: Improvement in disability after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis is associated with neuroprotective autoimmunity. *Brain* 133 (Pt 8): 2232-2247, 2010.
- 15) Weiner HL: The challenge of multiple sclerosis: how do we cure a chronic heterogeneous disease. *Ann Neurol* 65: 239-248, 2009.
- 16) Kutzelnigg A, et al: Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 128: 2705-2712, 2005.
- 17) Magliozzi R, et al: Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain* 130: 1089-1104, 2007.
- 18) Mi S, et al: LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 13: 1228-1233, 2007.
- 19) Karnezis T, et al: The neurite outgrowth inhibitor Nogo A is involved in autoimmune-mediated demyelination. *Nat Neurosci* 7: 736-744, 2004.

---

#### Neurological Disorders and Inflammation - From the Aspect of Multiple Sclerosis -

Norio Chihara, Takashi Yamamura

Department of Immunology, National Institute of Neuroscience,

National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)



# 多発性硬化症

千原 典夫 山村 隆

## はじめに

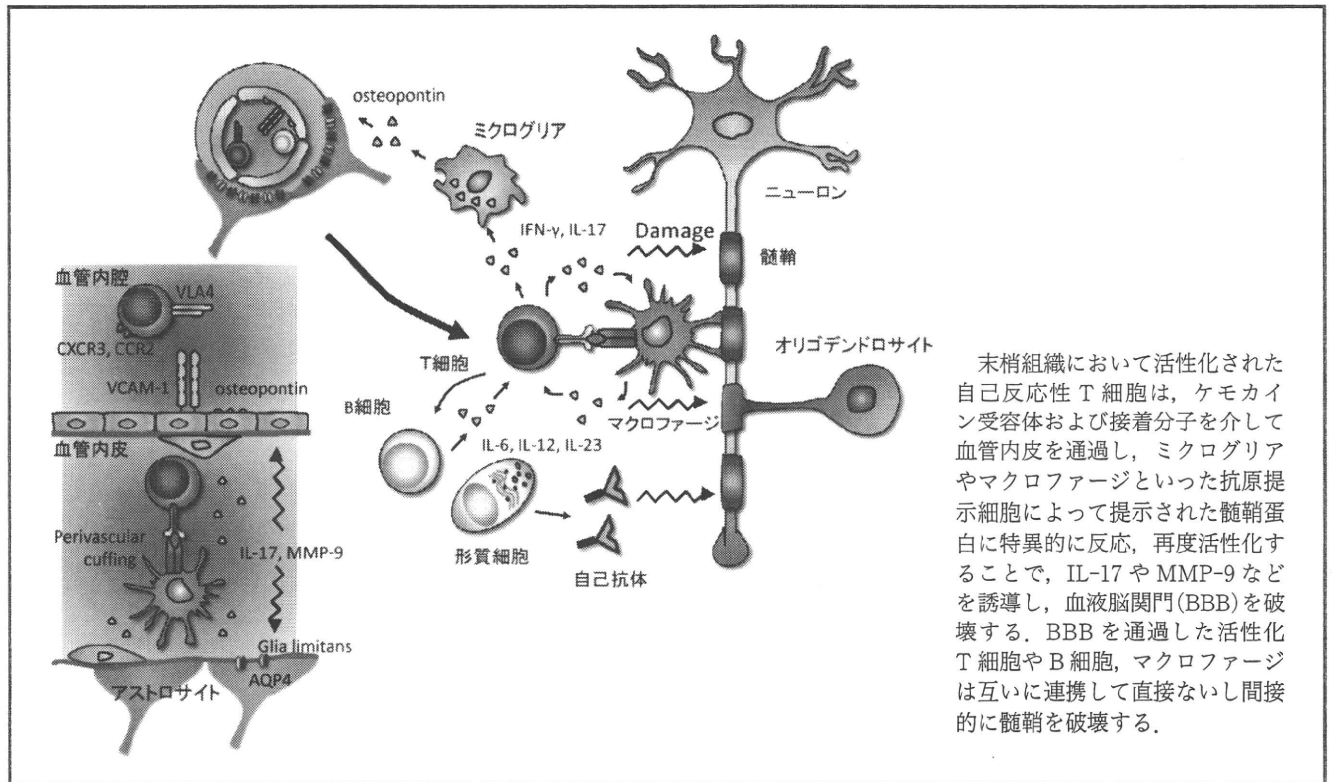
多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)は中枢神経の炎症性脱髄疾患で、若年成人に好発する。再発寛解を繰り返し、慢性的な経過で神経変性を来す。わが国での患者数は10,000人に1人であるが、近年増加している。MSの症状には特徴がなく(視力低下、しびれ、ふらつきなど)、誤った診断のまま放置されるケースが後を絶たない。炎症の強い時には高用量ステロイド治療などの炎症を抑える治療を行い、維持療法としてインターフェロン-β(IFN-β)注射などが必要であるが、治療方針の決定は医師の経験や勘に

頼っているのが現状である。ウイルス性肝炎、糖尿病など、血液検査で診断や病状の把握が簡単に行える病気が多いのに対し、MSでは末梢血あるいは髄液サンプルで測定可能な、疾患活動性、治療反応性を反映するバイオマーカーが確立されていない。そこで本稿では、近年注目されているMSのバイオマーカー候補について、その疾患活動性と治療反応性に分けて概説する。

## 本邦におけるMSの特徴

本邦におけるMSは1958年、沖中らによって初めてまとめられ<sup>1)</sup>、大脳病変を主体とする通常型(conventional)MS(CMS)と視神経・脊髄病変を主体とするneuromyelitis optica(NMO)が約半数ずつ存在し、両者の移行もみら

ちはら のりお 国立精神・神経医療研究センター神経研究所/  
免疫研究部  
やまむら たかし 同 部長



れるとされた。近年、NMOの病型を呈するなかに中枢神経、特にアストロサイトに高発現する水チャンネルである、アクアポリン4(AQP4)に対する自己抗体を有する者が存在することが明らかになった<sup>2)</sup>。抗AQP4抗体は特異性が高いため診断の有用なマーカーとなるが、必ずしも病勢を反映しておらず、またCMSとNMOを鑑別するには感度が十分でない(30~80%)。また、わが国におけるMSの寛解期治療にはIFN-βが用いられるが、抗AQP4抗体を有する病態では効果がないことが示唆され<sup>3)</sup>、CMSにおいてもIFN-βの効果があるものとなないものがある。このように一言でMSといってもその病態は多種多様である。その臨床経過の把握、治療反応性の判定、予後予測といった質の高い患者管理のためには、適切なバイオマーカーが不可欠である。

### MSの病態

疾患活動性バイオマーカーを考える上で、初めにMSの病態機構を簡単に紹介する(図)。MSの本態は中枢神経のミエリン蛋白に対する自己免疫反応であると考えられており、自己免疫反応にはCD4陽性ヘルパーT細胞が中心的な役割を果たし、自己反応性CD4陽性T細胞は中枢神経系に浸潤するとされてきた。自己反応性T細胞は末梢リンパ組織において活性化され、IFN-γ産生性Th1細胞やIL-17産生性Th17細胞へ分化する。これら活性化T細胞には、CXCR3、CCR2などのケモカイン受容体、およびVLA-4などの接着分子が発現している。

炎症細胞が中枢神経に浸潤するためには血液脳関門(BBB)を破壊する必要がある。BBBは血管内皮とglia limitansの2層構造からなるが、CXCR3リガンドであるIP-10などのケモカインや、VLA-4リガンドであるVCAM-1、osteopontinの発現が血管内皮細胞で増加しており、自己反応性T細胞は血管内皮に接着し、perivascular cuffに浸潤する。髄腔は概念としてperivascular cuffに相当する。そして、活性化マクロファージなどによって提示された髄鞘蛋白に特異的に反応、再度活性化し、IFN-γ、IL-17など様々な炎症性サイトカインやケモカインを産生しBBBを破壊する。これらの炎症反応や、BBBの破壊に伴い動員されたB細胞が産生する自己抗体が髄鞘を障害し、脱髄がおこる。抗AQP4抗体はglia limitans上のアストロサイト足突起に高発現しているAQP4を直接障害する可能性があり、BBBの破壊にも関わっていると考えられる。

これに対して、自己反応性T細胞や病的な免疫系の活性化に対して抑制的に働く免疫系細胞の存在が知られており、免疫調節細胞と呼ばれる。免疫調節細胞は、炎症性サイトカインに拮抗するIL-4、IL-10などの調節性サイトカインを産生し、自己反応性T細胞に対して抑制的に働く。MSにおいてはCD4陽性CD25陽性T細胞、NK細胞、NKT細胞などが免疫調節細胞として示唆されている。

### 疾患活動性バイオマーカー

ここではMSの病態に応じ、炎症の司令塔となる① T

カテゴリ	バイオマーカー	サンプル	疾患活動性増悪時	参考文献
Th1細胞関連	pSTAT1, T-bet	PBMC	頻度増加	J Neurosci Res. 2006 ; 84 : 1027-36.
Th17細胞関連	IL-17	CSF	増加	Brain. 2005 ; 128 : 988-1002.
アポトーシス	IAP	PBMC	発現増加	Mult Scler. 2008 ; 14 : 577-94.
	osteopontin	CSF	増加	Arch Neurol. 2008 ; 65 : 232-5.
ケモカインおよびケモカイン受容体	CXCR3, CCR5	CSF infiltrated T cells	増加	Mult Scler. 2003 ; 9 : 189-98.
	CXCR3, IP-10	CSF infiltrated T cells	増加	J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2002 ; 72 : 498-502.
	CCR2	CSF infiltrated T cells	増加	Biomark Insights. 2007 ; 2 : 463-8.
接着分子	sICAM-1, sVCAM-1	CSF	濃度増加	J Neurol. 2005 ; 252 : 146-50.
メタロプロテイナーゼ	sICAM-1, sVCAM-1	serum	濃度増加	J Neurol. 2005 ; 252 : 526-33.
	MMP-9	serum, CSF	濃度増加	Mult Scler. 2006 ; 12 : 294-301.
	MMP-3	serum	濃度増加	J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2006 ; 77 : 185-8.
脱髄, 軸索障害	neurofilament	CSF	増加	Mult Scler. 2010 ; 16 : 287-92.
	GFAP, S100β	CSF	増加	J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009 ; 80 : 575-7.
NK細胞	CD11c	PBMC	発現増加	J Immunol. 2006 ; 177 : 5659-67.

PBMC 末梢血単核球細胞, CSF 髄液, serum 血清

細胞, その中枢への移行に関わる ② ケモカイン, ③ 接着分子, その後におこる ④ 組織破壊と, 炎症の補助を行う ⑤ B 細胞, 炎症の制御を行う ⑥ 免疫調節細胞に分けて述べる. これまでに報告のあった, 主な MS の疾患活動性に関するバイオマーカーを表に列挙する.

### 1. Th1/Th17 細胞関連マーカー, 活性化マーカー

MS では CD4 陽性 T 細胞の活性化, 頻度の増加, アポトーシス異常などが認められる. これらは疾患活動性を反映する可能性が想定され, 末梢血および髄液中での動態が様々な角度から解析されてきた. 病原性 T 細胞としては Th1 細胞や Th17 細胞が想定されている. Th1 細胞分化には, STAT-1 や T-bet などの転写因子が重要な役割を果たすが, CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞に占める, 活性化型 STAT-1 および T-bet 陽性細胞の頻度が MS の再発時に増加すると報告されている. また, IFN- $\gamma$  や IL-17 産生細胞の割合が MS の髄液中では増加しており, 再発時には IL-17 産生細胞がさらに増加するという報告がある<sup>4)</sup>. IL-17 は再発時に CMS より NMO の髄液中で上昇していると報告されており, Th17 細胞の NMO 病態へのより強い関与が予想される. これら病原性 T 細胞の鍵となる遺伝子発現やサイトカインは疾患活動性のバイオマーカーとして期待される.

また, 活性化 T 細胞のアポトーシス異常は, 自己免疫疾患発症の一因となることが示唆されている. そこで疾患活動性とアポトーシス関連蛋白の相関が解析されている. active MS においては, stable MS に比べて inhibitor of apoptosis (IAP) という, 抗アポトーシス蛋白ファミリーの発現上昇が認められた. この発現上昇は MRI での新規病巣数と相関した. また, MS の再発時に髄液中で上昇し, 病変部に発現が高まる osteopontin は, MS の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) において活性化 T 細胞の抗アポトーシス蛋白を亢進させ, 病態を増悪, 遷延させることが知られ, 活性化マーカーとして注目されている<sup>5)</sup>.

### 2. ケモカインとケモカイン受容体

ケモカインは細胞の遊走を誘導するサイトカインであり, MS の病態においても自己反応性 T 細胞およびその他の炎症性細胞の, 病巣への浸潤に重要な役割を果たすと考えられており, 疾患活動性マーカーとしての報告も多い.

再発時には, 主として Th1 細胞に発現される CXCR3, CCR5 といったケモカイン受容体陽性細胞の髄液中での頻度上昇や, 髄液中 IP-10 濃度の上昇が報告されている. EAE モデルにおいては Th17 に発現する CCR6 陽性細胞の脈絡叢を介しての髄腔内浸潤が炎症の惹起に必須であることが示されており, 注目されている<sup>6)</sup>. また CCR2 陽性 T 細胞の頻度上昇の報告もある. CCR2 は CCL2 (macrophage inflammatory protein-1, MCP-1) の受容体であり, 単球, マクロファージ系細胞に高レベルに発現し, これら自然免疫系の細胞を炎症巣に誘導する働きがある. われわれは CCR2 陽性 CCR5 陰性 T 細胞が Th17 細胞であることを報告しており<sup>7)</sup>, 再発時の Th1 細胞や Th17 細胞に発現するケモカイン受容体は, 疾患活動性バイオマーカーとしての可能性が示唆される.

### 3. 接着分子, メタロプロテイナーゼ

MS の再発に際して, soluble ICAM-1 (sICAM-1), soluble VCAM-1 (sVCAM-1), など可溶性接着分子の血清中の濃度上昇が認められ, 自己反応性 T 細胞活性化に伴い血清中に放出されると考えられた. 血清中 sICAM-1 は, ガドリニウム増強病巣の出現に先立って上昇すると報告されている. また, メタロプロテイナーゼは, 細胞外基質 (extracellular matrix) を溶解することにより, BBB の破壊, 炎症細胞の組織への浸潤などに重要な役割を果たすことが示唆されている. MS の再発時には, MMP-9 は血清および髄液中濃度が, MMP-3 は血清中濃度が上昇すると報告されている.

### 4. 組織障害関連マーカー

MS においては脱髄が第一義的な病態であるが, 疾患早期の段階から軸索障害もおこることが示されている. Neurofilament light protein は軸索での主要な細胞骨格蛋白であるが, MS における髄液中での上昇が認められ, 特に再発時に顕著に上昇し, また, 再発の頻度, 神経症状の重症度と相関すると報告されている. 抗 AQP4 抗体陽性の NMO においては疾患早期にアストロサイトの破壊がおこることが知られ, 構成蛋白の GFAP や S100B が髄液中で上昇することが報告されており, 病勢を反映することで疾患活動性マーカーとしても期待される.

### 5. B 細胞関連マーカー

MS の病態において, B 細胞は自己反応性 T 細胞とともに

に、病原性細胞として重要な役割を果たしていると考えられている。それは、B細胞を除去する抗CD20抗体がMSの再発抑制に効果を示したからである<sup>8)</sup>。B細胞はその抗原提示能ないし抗体産生を通じて病態への関与が考えられるが、その研究は十分進んでいない。CMSにおける髄液中のオリゴクローナルバンドの存在から、B細胞が髄液中でクローナルな増殖をしていることが予想される。MSの診断に有用だが、その病態への関与はいまだ不明である。NMOでは抗AQP4抗体の病原性が示唆されているが、その抗体価が病勢と相関するかは決着をみていない。この抗体はポリクローナルであること、末梢血で抗体価が高いことから、抗AQP4抗体産生B細胞の病態への関わりはCMSと異なる可能性がある。B細胞の動態は前述のTh1/Th17細胞関連マーカーと併せて、CMSとNMOそれぞれの病態に則した疾患活動性マーカーの確立のためにも、その解明が本邦において特に求められている。

## 6. 免疫調節細胞

われわれの研究室では、NK細胞がEAEの調節細胞であると報告しているが<sup>9)</sup>、MS患者末梢血においてその数が減少しているという報告がある<sup>10)</sup>。われわれは、MS寛解期においてNK細胞のCD11c発現量が有意に増加し、それが調節機能障害を反映し、再発率と相関することを報告している。NK細胞の減少や機能障害は疾患活動性マーカーとしての有用性が期待できると考えられる。他の免疫調節細胞としてCD4陽性CD25陽性抑制性T細胞、NKT細胞などがあり、MSではその調節機能が障害されていることが予想されるが確定的な報告はまだない。

## 治療反応性バイオマーカー

現在、MS寛解期の維持療法としてIFN-β治療が認められている。IFN-βは病原性T細胞と考えられるTh1細胞分化やTh17細胞分化を抑制するなどの効果が知られているが、CMSの中でも治療前に血清IL-17F(IL-17ファミリーの一つ)高値の患者にはIFN-βの効果が期待できないとの報告がある<sup>11)</sup>。また、NMOでは抗AQP4抗体を有する場合はIFN-βで増悪する場合があります、それぞれ治療導入の指標となる。

一旦治療を開始した後は、その中和抗体の産生が問題となる。Neopterin、β2ミクログロブリン、myxovirus-

resitant protein A(MxA)などがバイオマーカーとして知られ、特にMxAのメッセンジャーRNA量は中和抗体の存在と新たな再発のリスクと相関しており、治療導入後のモニタリングに有用なバイオマーカーである<sup>12)</sup>。

今後、MSの治療としてGlatiramer acetate, Natalizumab(抗VLA4抗体), Rituximab(抗CD20抗体), FTY720などが日本でも導入されてくると考えられるので、その治療反応性に関するバイオマーカーにも注目してゆく必要がある。

## むすび

本邦におけるMSは増加傾向にあり、その病態は多種多様であると考えられる。本邦のMSには前述のような特徴があり、日本のMSの病態解明が、疾患コントロールに有用なバイオマーカーの確立に寄与すると考えられ、さらなる研究が求められている。

## 文 献

- 1) Okinaka S, Tsubaki T, Kuroiwa Y, et al. Multiple sclerosis and allied diseases in Japan: clinical characteristics. *Neurology*. 1958; 8: 756-63.
- 2) Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet*. 2004; 364: 2106-12.
- 3) 多発性硬化症治療ガイドライン委員会. 多発性硬化症治療ガイドライン2010. 日本神経学会; 2010. <http://www.neuroimmunology.jp/MSgaido2009.pdf>
- 4) Brucklacher-Waldert V, Stuermer K, Kolster M, et al. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain*. 2009; 132: 3329-41.
- 5) Hur EM, Youssef S, Haws ME, et al. Osteopontin-induced relapse and progression of autoimmune brain disease through enhanced survival of activated T cells. *Nat Immunol*. 2007; 8: 74-83.
- 6) Reboldi A, Coisne C, Baumjohann D, et al. C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat Immunol*. 2009; 10: 514-23.
- 7) Sato W, Aranami T, Yamamura T. Cutting edge: human Th17 cells are identified as bearing CCR2+CCR5- phenotype. *J Immunol*. 2007; 178: 7525-9.
- 8) Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2008; 358: 676-88.
- 9) Zhang B, Yamamura T, Kondo T, et al. Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by natural killer (NK) cells. *J Exp Med*. 1997; 186: 1677-87.
- 10) De Jager PL, Rossin E, Pyne S, et al. Cytometric profiling in multiple sclerosis uncovers patient population structure and a reduction of CD8 low cells. *Brain*. 2008; 131: 1701-11.
- 11) Axtell RC, de Jong BA, Boniface K, et al. T helper type 1 and 17 cells determine efficacy of interferon-β in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis. *Nat Med*. 2010; 16: 406-12.
- 12) Polman CH, Bertolotto A, Deisenhammer F, et al. Recommendations for clinical use of data on neutralising antibodies to interferon-beta therapy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2010; 9: 740-50.