

MSの免疫病態のトピックス

富田敦子 荒浪利昌 山村 隆

TOMITA Atsuko, ARANAMI Toshimasa, YAMAMURA Takashi/独立行政法人国立精神・神経医療研究センター免疫研究部

多発性硬化症(MS)の動物モデルではTh17細胞やTh1細胞が重要な役割を果たすが、MS病態においてはまだ一定の見解は得られていない。インターフェロンβ(IFN-β)治療抵抗性のMS患者の特徴として、IFNシグナルの亢進、血清中のIL-17FおよびIFN-βの濃度上昇が認められており、Th17偏倚が関与している可能性がある。また、MSの炎症初期病態形成には、脈絡叢から侵入したCCR6陽性Th17細胞の関与が提唱されている。抗CD20抗体であるリツキシマブの有効性から、B細胞のMS病態への関与が示され、抗体産生やT細胞からの炎症性サイトカイン産生促進を介する機序が示唆されている。

はじめに

多発性硬化症(MS)は、T細胞やB細胞が介在する自己免疫性脱髄性疾患である。MS患者数は年々増加し、2008年3月現在の特定疾患認定患者は1万3千人にもものぼる。MS研究は、Th1/Th2バランスに立脚した病態解釈から、インターロイキン17(IL-17)を産生するTh17細胞の同定を経て新たな時代に入ったと考えられる。また、MS再発抑制の第一選択薬であるインターフェロンβ(IFN-β)に対する治療抵抗性の分子基盤、およびバイオマーカー研究においても進展がみられる。ここでは、実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)やMSの病態について、Th1細胞やTh17細胞をめぐる議論を含め最近の知見を交えて概説する。

MSとTh1, Th17細胞

MSの原因はまだわかっていないが、髄鞘蛋白のひとつであるミエリン塩基性蛋白(myelin basic protein; MBP)のアナログ投与による症状の増悪¹⁾や、全身性エリテマトーデス(SLE)や1型糖尿病などの自己免疫疾患とMSに共通するMHCハプロタイプの存在²⁾、EAEとMSの病態との類似から、自己免疫疾患と考えられるようになった。免疫系細胞のうち、ヘルパーT(Th)細胞は免疫反応の中心的存在であり、MSとは髄鞘蛋白反応性Th細胞が惹起する自己免疫疾患であるとされる。Th細胞の最も重要な機能のひとつが多様なサイトカイン産生であるが、Th細胞は活性化ののち、特定のサイトカイン産生細胞へと分化する(図1)。従来、自己免疫疾患においてはTh1細胞が過剰に働いており、またTh1と

Key words

- Th17細胞
- インターフェロン(IFN)β治療抵抗性
- CCR6
- リツキシマブ
- B細胞

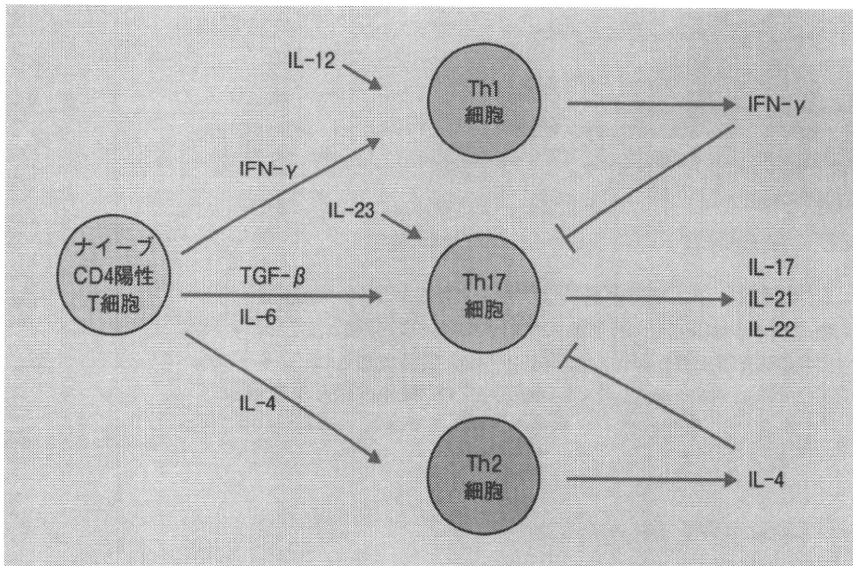


図1 CD4 陽性 T細胞の分化

ナイーブ CD4 陽性 T細胞は、活性化に伴い IL-12 存在下では Th1 細胞、IL-4 存在下では Th2 細胞に分化する。IL-6 と TGF-β 存在下では Th17 細胞に分化し、IL-23 は Th17 細胞の増殖に働く。IFN-γ と IL-4 は Th17 細胞の分化を抑制する。

Th2 は互いに抑制的に働くことから、Th1/Th2 バランスの乱れが関与すると考えられてきた。しかし近年、Th17 細胞が新たな Th 細胞分画として発見されてから、乾癬などの慢性炎症性疾患の病態形成に、Th17 細胞が関与していることが示唆されている。同様に MS でも、これまでの Th1/Th2 バランスの概念が大きく変化し、Th17 細胞の病態への関与について報告されている。

MS の動物モデルである EAE では、Th1 細胞分化に重要な IL-12 の欠損マウスが EAE を発症するのに対して、Th17 細胞の増殖あるいは病原性の獲得に重要な IL-23 の欠損マウスでは EAE が発症しないことが示されている。また、健常マウスに移入した場合、

Th1 細胞と比較し、Th17 細胞がより重篤な EAE を惹起することも示された³⁾。しかしその一方で、Th17 細胞が特徴的に産生する種々のサイトカイン(IL-17A, IL-17F, IL-22 など)遺伝子の欠損は、必ずしも EAE 発症に影響を及ぼさないことも報告された⁴⁾。

ヒトでは、MS 髄液中での IL-17 の mRNA の増加⁵⁾や、視神経脊髄型 MS (opticospinal MS ; OSMS) の髄液中 IL-17 蛋白濃度の増加⁶⁾などが報告されている。また、IFN-γ、IL-17 の両方のサイトカインが、炎症のプロセスに関与しているとする説もある。MS 患者の髄液中では、IFN-γ 産生細胞に加えて IL-17 産生細胞も再発時に増加している⁷⁾。さらには、IFN-γ と IL-17 を同時に産生する double produc-

er 細胞がより血液脳関門(blood-brain barrier ; BBB)通過能が高く、MS の病巣でも多く観察される⁸⁾ことが報告されている。しかしその一方で、IL-12 と IL-23 シグナルをブロックする中和抗体は、乾癬には有効であったが、MS においては再発抑制効果が認められなかった⁹⁾。このような経緯から、MS における Th17 細胞の意義はまだ確立していない。

IFN-β responder と non-responder

IFN-β は再発寛解型 MS (relapsing-remitting MS ; RRMS) の再発予防薬のひとつとして広く用いられている。IFN-β の作用機序については、炎症性サイトカインである IFN-γ の抑制、T 細胞活性化の阻害、T 細胞の遊走抑制、Th17 細胞への分化抑制などさまざまな報告があるが、まだ一定の見解が得られていない。また、IFN-β 投与により再発や活動性病巣の減少が認められるが、IFN-β に治療抵抗性の MS 患者群(non-responder)も 10~50% 存在する。これまで non-responder の存在は知られていたが、その分子機構および IFN-β 導入以前に両者を区別可能なバイオマーカーは不明であった。

Comabella らは、IFN-β 投与を受けた MS について、IFN-β 投与前後の末梢血液のマイクロアレイデータと 2 年後の治療反応性を照合し、IFN-β 有効性を予測できる遺伝子を探索し

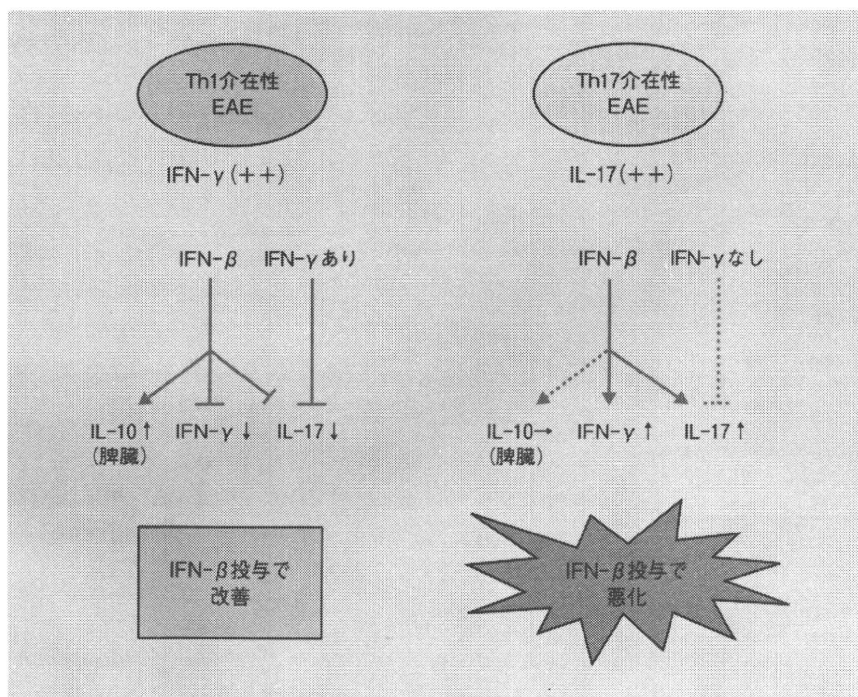


図2 サイトカインによるIFN-β反応性の違い

Th1細胞が優位な環境では、IFN-γシグナリングが存在し、IFN-β投与によるIFN-γやIL-17など炎症性サイトカインの抑制、抑制性サイトカインであるIL-10産生が起こる(左)。Th17細胞が優位な環境では、IFN-γが存在しないため、これらの反応が起こらず、症状が増悪する(右)。

た¹⁰⁾。その結果、IFN-β導入後、1回以上の再発があり、かつKurtzke総合障害度スケール(EDSS)スコアが1以上増悪したnon-responderでは、薬剤投与前からtype 1 IFNシグナルに関わる遺伝子の発現が亢進していた。Non-responderの末梢血ではtype 1 IFN受容体であるIFNR1の発現が増加し、IFNR1下流の細胞内シグナル伝達分子の活性化が亢進していることが判明した。つまりnon-responderにおいては、あらかじめ内因性のIFNシグナルが亢進した状態であるために、外から加えたIFN-βによる効果が得られないとも考えられ、今後

type 1 IFN関連遺伝子がIFN反応性の予測マーカーとなる可能性がある。

同時期にAxtellらはTh1細胞で誘導したEAEにはIFN-βが有効であり、逆にTh17細胞で誘導したEAEはIFN-β投与により症状の増悪がみられることを報告した¹¹⁾。Th1介在性EAEでは、IFN-β投与によりIFN-γおよびIL-17の抑制と、脾臓での抑制性サイトカインIL-10産生亢進が生じ、この効果はIFN-γノックアウトマウスでは観察されなかったことから、IFN-βが有効性を発揮するためにはIFN-γシグナルが必要と考えられた。一方、Th17介在性EAEでは、脾臓

でのIL-17産生は低下するがIL-10産生に変化がなく、脊髄でIFN-γあるいはIL-17産生細胞が増加していたことから、IFN-γの存在しない環境下ではIFN-βによるIL-10産生誘導が起こらず治療効果がみられないと考えられた(図2)。さらに、MS患者のうちnon-responderでは、治療前の血清中IL-17FとIFN-β濃度がresponderに比べて高い一群が存在し、Th17に偏倚している可能性が考えられた。この一群では、あらかじめIFN-β濃度が高いためにIFN-βの治療効果が得られないのか、Th17に偏倚している状況下ではIFN-βが炎症促進に働くのか、ここでは結論が出ていない。しかし、MSの病態にはTh1に偏倚している状態とTh17に偏倚している状態が存在し、前者にはIFN-β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は十分ある。IFN-β投与を検討するにあたり、この点も考慮に入れる必要があると言えよう。

中枢神経系に至る経路

接着分子 $\alpha 4\beta 1$ -インテグリン(VLA-4)/VCAM-1の中和抗体であるナタリズマブがMS再発抑制に有効である¹²⁾¹³⁾ことから、中枢神経系へのリンパ球浸潤過程を理解することは重要であるが、近年、この過程の分子機構の解析が進んでいる。中枢神経系はBBB、血液髄液関門(blood-cerebrospinal fluid barrier: BCSFB)と呼ば

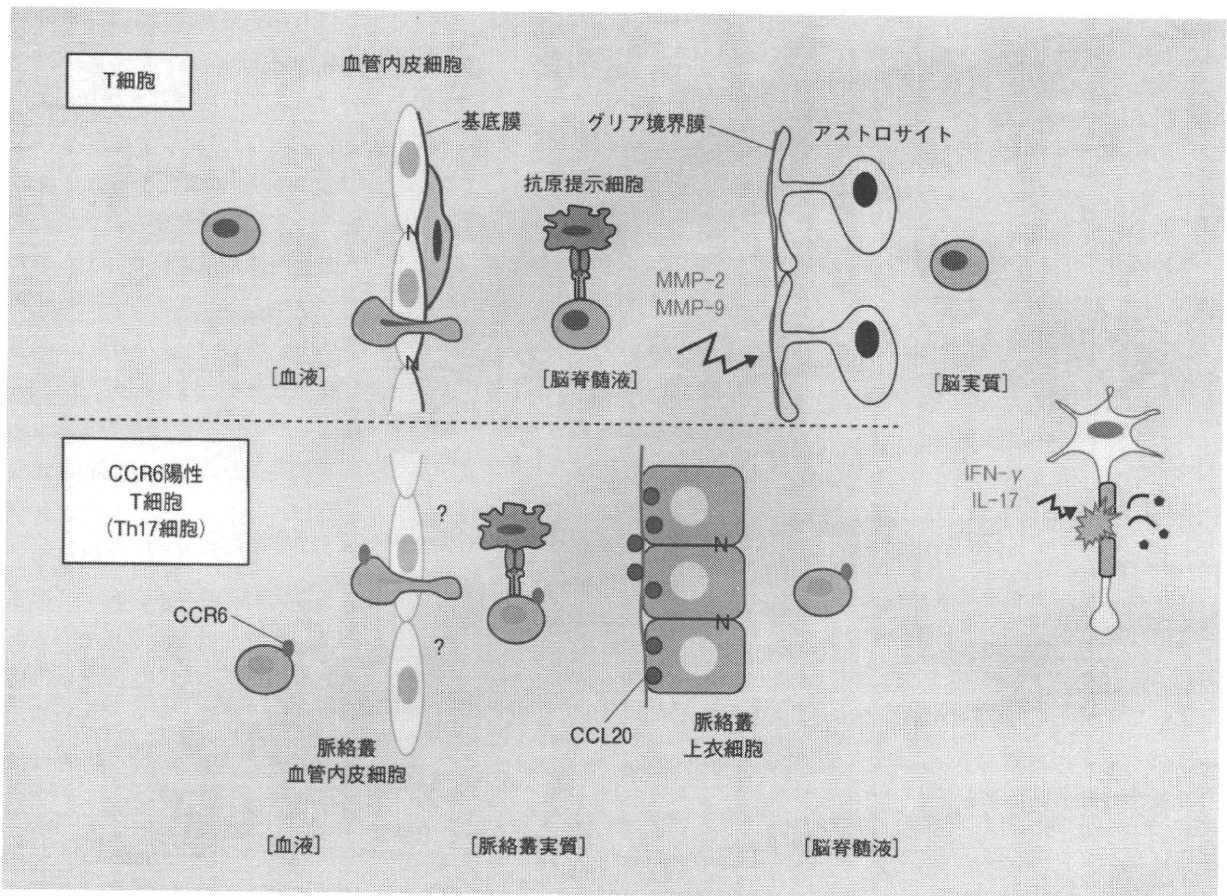


図3 中枢神経系へのリンパ球浸潤経路

上段：脳実質の血管周囲腔から浸潤する経路。活性化T細胞は、血管内皮細胞および内皮細胞基底膜を通っても膜下腔に至る。くも膜下腔に到達したT細胞のうち、抗原提示細胞が提示する自己抗原によって再活性化された自己反応性細胞のみが、アストロサイトの足や脳実質基底膜で構成されるグリア境界膜を通過でき、この際にmatrix metalloproteinase(MMP)と呼ばれるコラーゲン分解酵素が基底膜成分の分解に関与するとされている。

下段：脈絡叢から浸潤する経路。T細胞が脈絡叢血管内皮細胞や上衣細胞を通過する分子メカニズムはほとんどわかっていない。脈絡叢上衣細胞はCCR6陽性T細胞(Th17細胞)のリガンドであるCCL20を豊富に発現しており、CCR6陽性T細胞の遊走に関与すると提唱されている。

れる特殊構造によって物質の移動が制限されており、炎症細胞が血管から中枢神経系に侵入するためには2つのステップが必要とされている(図3:上段)。すなわち、炎症細胞は内皮細胞内を通り抜け、髄液と交通しているperivascular spaceに入る¹³⁾が、脳実質に侵入する際には、さらにアストロ

サイトの足と基底膜から構成されるグリア境界膜(glia limitans)を越える必要がある。T細胞はこの膜にはインテグリンを介して結合することができず、matrix metalloproteinase(MMP)-2、MMP-9などのMMPによって膜を変性させることで実質への侵入が可能になると推測されている。Bartholomäus

らは、2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、ovalbumin(OVA)特異的T細胞も血管内からくも膜下腔へ遊走し、活性化T細胞であれば血管外へ遊走することを示した¹⁴⁾。しかし、脳実質へ浸潤したのは、ミエリン抗原特異的

MSとB細胞

T細胞だけであったことから、髄液中で抗原提示細胞に遭遇し、再度特異的に活性化されることが、T細胞がグリア境界膜を越える際に必要であると示唆された。

また、血管内皮細胞からの経路のほかに、脈絡叢を介した中枢神経系への侵入経路も提唱されている(図3:下段)。脈絡叢は上皮細胞と軟膜で形成される脈絡板に毛細血管が入った組織であり、髄液を産生する。また、くも膜下腔を巡回している免疫監視細胞が中枢神経系に入る主な場所でもある。細胞は毛細血管から上皮細胞を通過して脳室内に到達するが、脈絡叢血管内皮細胞や上皮細胞を通過する分子メカニズムはほとんどわかっていない。最近、CCR6陽性T細胞が脈絡叢から髄液内、炎症のない脳実質に至り、MS炎症の初期段階に重要な役割を果たすことが示唆された¹⁵⁾。CCR6を欠損したマウスではEAEの発症が完全に抑制され、ミエリン抗原特異的なCCR6陽性T細胞をCCR6欠損マウスに移入するとEAEが惹起された。そのうえ、EAEのピーク時に髄膜や脳実質に浸潤していた細胞は投与したCCR6陽性細胞ではなく、CCR6を欠損したレシピエントのT細胞であった。すなわち、初期の炎症のトリガーには自己反応性CCR6陽性T細胞が必要であり、その後CCR6に依存しないマクロファージやほかのT細胞などの細胞浸潤が起こって炎症の第2波が形成されると考えられた。脈絡叢にはCCR6のリガンドであるCCL20が多く発現しており、MSの第1回目のエ

ピソードである clinically isolated syndrome (CIS)患者の髄液中でCCR6発現細胞が多いことから、MSの初期病態形成に、脈絡叢から侵入したCCR6陽性T細胞が関与していると提唱されている。CCR6はTh17細胞に主に発現するケモカイン受容体であることから、Th17細胞がMSの炎症の開始に何らかの役割を果たしていることを示唆するデータではあるが、一方でCCR6遺伝子欠損マウスでEAEがむしろ増悪したという報告もあり¹⁶⁾、CCR6陽性細胞のMS病態への関与についてはさらなる研究を要する。

これまで、CSF中のオリゴクローナルバンドの存在は、病態に免疫が介在する間接的な証拠と考えられてきたが、病態との関連についてはまだ解明されていない。

二次進行型MS(secondary progressive MS; SPMS)患者の髄膜には、B細胞や形質細胞に富んだ異所性リンパ濾胞(ectopic lymphoid follicles)が認められ¹⁷⁾、B細胞の増殖や免疫グロブリン産生のもととなり得ることが考えられた。このリンパ濾胞は脳溝のくも膜下腔に比較的限局して存在し、皮質病

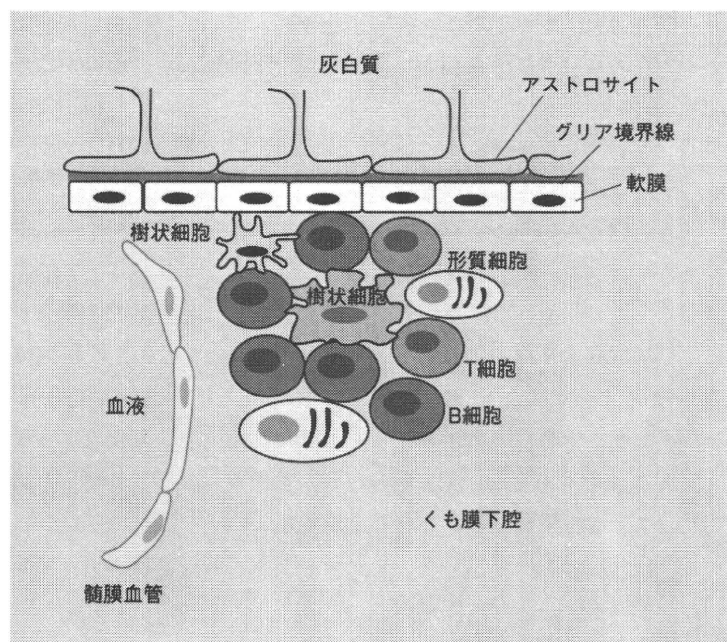


図4 異所性リンパ濾胞(ectopic lymphoid follicles)
リンパ濾胞は、脳溝下の髄膜血管周囲に軟膜に接して存在する。濾胞樹状細胞はB細胞遊走因子であるCXCL13を産生し、濾胞内でネットワークを形成する。

変の重篤度や疾患活動性と相関したと報告されている(図4)。CXCL13は、B細胞のリンパ節への移動に関与するケモカインであり、さまざまな自己免疫疾患における異所性リンパ濾胞形成に重要な分子であるが、MS患者の髄膜内リンパ濾胞や活動性病変、髄液中で発現が上昇している。

また、B細胞がMS病態に関与する根拠として、リツキシマブの有効性が挙げられる。リツキシマブは抗CD20モノクローナル抗体であり、2つの臨床試験において、リツキシマブにより選択的にB細胞を除去すると、新規炎症病巣が早期にかつ有意に減少することが示された。Bar-Orらは、リツキシマブによるB細胞除去のT細胞への影響を解析し¹⁸⁾、MS患者のB細胞はIFN- γ などの刺激に対して、リンホトキシンやTNF- α などの炎症性サイトカインを多量に産生する傾向を有するが、B細胞を除くとCD4やCD8陽性T細胞からの炎症性サイトカイン産生が顕著に抑制されることを示した。一方、髄液中の免疫グロブリンレベルやオリゴクローナルバンドには影響がなく、この抗CD20抗体の効果は、抗体や形質細胞を標的にしたものではないと考えられた。以上より、B細胞のサイトカイン産生異常が非特異的に炎症性T細胞を刺激し、MS再発のトリガーとなる可能性が考えられる。

さらに、EAEにおいても、B細胞の関与を示唆する報告がある。ミエリンオリゴデンドロサイト糖蛋白(My-

elin oligodendrocyte glycoprotein; MOG)特異的T細胞受容体のトランスジェニックマウスは、Pöllingerらによって作製された初の再発寛解型EAEを自然発症するマウスであるが、炎症病巣にはCD4やCD8陽性T細胞に加えてB細胞浸潤が認められ、病気の進行はミエリン抗原反応性B細胞の増加と併行していた¹⁹⁾。興味深いことに、抗CD20抗体でB細胞を除去すると、血清中の抗MOG IgG1抗体が減少するとともに、EAEの発症が抑制された。これらのことから、自己反応性T細胞は自己反応性B細胞を増殖させ、抗MOG抗体の産生を誘導するとともに、自己反応性B細胞がMSの発症に関与する可能性が示された。これらの知見により、MS病態におけるT細胞-B細胞インタラクションの重要性がより明らかになった。今後さらなる報告が期待される。

おわりに

MSの病態をめぐって日々新たな報告がなされている。Th17細胞の発見によって自己免疫疾患の概念が大きく変わったように、MSの知見においても進歩があり、概念も変化している。われわれは免疫学の観点から病態を捉え、患者さんにとって最良の治療を常に考えていかなければならない。この稿がその一助になれば幸いである。

●文献

1) Bielekova B, Goodwin B, Richert N

- et al : Nat Med 6 : 1167-1175, 2000
- 2) Fernando MM, Stevens CR, Walsh EC et al : PLoS Genet 4 : e1000024, 2008
 - 3) Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM et al : J Exp Med 201 : 233-240, 2005
 - 4) Haak S, Croxford AL, Kreyenborg K et al : J Clin Invest 119 : 61-69, 2009
 - 5) Matusevicius D, Kivisäkk P, He B et al : Mult Scler 5 : 101-104, 1995
 - 6) Ishizu T, Osoegawa M, Mei FJ et al : Brain 128(Pt 5) : 988-1002, 2005
 - 7) Brucklacher-Waldert V, Stürner K, Kolster M et al : Brain 132(Pt 12) : 3329-3341, 2009
 - 8) Kebir H, Ifergan I, Alvarez JI et al : Ann Neurol 66 : 390-402, 2009
 - 9) Segal BM, Constantinescu CS, Raychaudhuri A et al : Lancet Neurol 7 : 796-804, 2008
 - 10) Comabella M, Lünemann JD, Río J et al : Brain 132(Pt 12) : 3353-3365, 2009
 - 11) Axtell RC, de Jong BA, Boniface K et al : Nat Med 16 : 406-412, 2010
 - 12) Ransohoff RM : N Engl J Med 356 : 2622-2629, 2007
 - 13) Newwelt E, Abbott NJ, Abrey L et al : Lancet Neurol 7 : 84-96, 2008
 - 14) Bartholomäus I, Kawakami N, Odoardi F et al : Nature 462 : 94-98, 2009
 - 15) Reboldi A, Coisne C, Baumjohan D et al : Nat Immunol 10 : 514-523, 2009
 - 16) Elhofy A, Depaolo RW, Lira SA et al : J Neuroimmunol 213 : 91-99, 2009
 - 17) Magliozzi R, Howell O, Vora A et al : Brain 130 (Pt 4) : 1089-1104, 2007
 - 18) Bar-Or A, Fawaz L, Fan B et al : Ann Neurol 67 : 452-461, 2010
 - 19) Pöllinger B, Krishnamoorthy G, Berer K et al : J Exp Med 206 : 1303-1316, 2009



【テーマ②】

Th17細胞のケモカインレセプターの発現

はじめに

ナイーブT細胞は、特異的な抗原に遭遇し活性化されると、特徴的なサイトカインを産生する細胞集団へと分化する。これまで永年にわたってTh1とTh2細胞のバランスによって免疫現象の多くが説明されてきた。Th1細胞はIL-12存在下で誘導されIFN- γ を産生するT細胞であり、ウイルスなどの細胞内病原体を排除する。一方、Th2細胞はIL-4の存在下で誘導され、IL-4、IL-5、IL-13などのTh2サイトカインの産生を介して、B細胞増殖、IgE産生などを誘導し、寄生虫感染の排除において重要な役割を果たす。多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) などの臓器特異的自己免疫疾患はTh1優位であり、一方アレルギー疾患はTh2優位とされてきた。ところが、MSの動物モデルの解析から、IL-17を産生するT細胞が病態形成に重要な役割を果たしており、それがTh1やTh2細胞とは異なる分化経路をたどる細胞であることが証明され、Th17細胞と名付けられた。本稿では、Th17細胞のバイオマーカーとして重要な、ケモカインレセプターの発現について最近の基礎および臨床研究を概説する。

Th17細胞のケモカインレセプターの同定

ケモカインはサイトカインの一種で、G蛋白質共役受容体であるケモカインレセプター発現細胞を遊走・活性化させる作用をもち、免疫系細胞を「適材適所」に誘導する役割を果たしている。一般にナイーブCD4陽性T細胞は末梢リンパ節のT細胞領域へケモカインレセプターとしてCCR7を発現しているが、活性化とともにその発現を失い、エフェクター細胞に分化すると特有のケモカイン受容体を発現するようになる。これまでの報告ではTh1細胞に分化するとCCR5やCXCR3を、Th2細胞ならCCR4やCCR8、CRTh2を発現する傾向があり、T細胞の分化とケモカイン受容体の発現は協調して制御されていると考えられる。

Th17細胞が独立した分化経路をたどる細胞であるならば、Th1細胞やTh2細胞とは違った特有のケモカイン受容体を発現している可能性が考えられる。われわれは、メモリーCD4陽性T細胞を2種類のケモカインレセプターで分画し、おのおのの分画をセルソーターでソーティングしたのち、PMAとionomycinで刺激してサイトカイン産生能を比較した。その結果、CCR2陽性CCR5陰性T細胞をIL-17産生性T細胞として同定した¹⁾。われわれと同時期にAcosta-Rodriguezらが同様の手法により、末梢血中CCR6陽性CCR4陽性T細胞が、ヒトTh17細胞であると報告した²⁾。その後ヒト慢性炎症性疾患のIL-17産生性T細胞がしばしばIFN- γ を同時に産生することが報告され、そのようなポピュレーションも包含するかたちで、現在ではかえって1種類のケモカインレセプターCCR6を用いてTh17細胞のケモカインレセプターとするのが主流となっている。また、CCR6のリガンドとしては、MIP-3a(CCL20)が唯一のリガンドとして報告されている。

Th17細胞分化およびケモカインレセプター発現制御機構

Th1細胞やTh2細胞分化過程にIL-12やIL-4などのサイトカインが重要であることが知られていたことから、ナイーブT細胞からTh17細胞への分化を促進するサイトカインがマウスのT細胞を用いて探索された。その結果、TGF- β とIL-6が協調的にTh17細胞分化を促進することが判明した。ナイーブT細胞をTGF- β 存在下で培養するとFoxp3陽性の制御性T細胞(induced T regulatory cells ; iTreg cells)が誘導され、ナイーブT細胞をTGF- β とIL-6共存下で培養すると、IL-17産生細胞が誘導された³⁾。こうして誘導されたIL-17産生性T細胞は、IFN- γ 、IL-4産生能を示さず、Th17細胞分化に必須の転写因子であるROR γ tを高度に発現し、Th17細胞であると考えられ

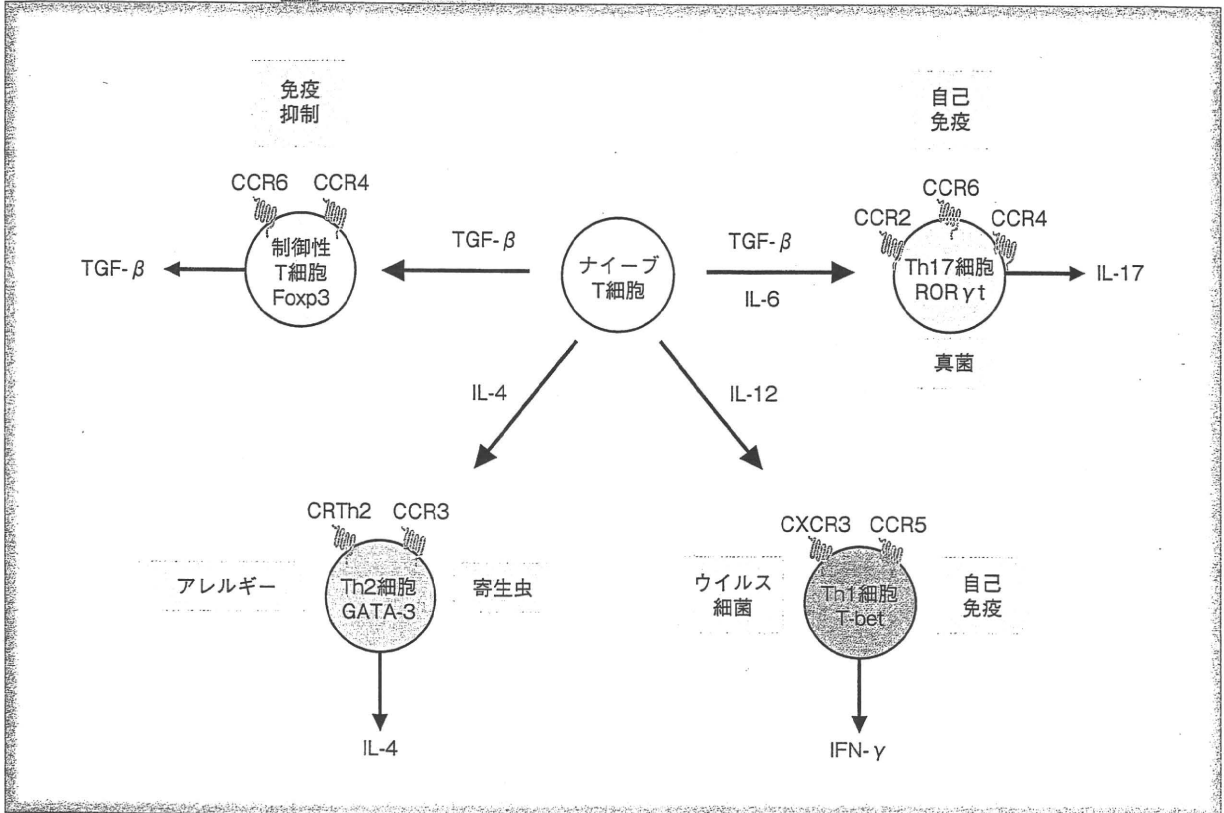


図1 T細胞サブセットのまとめ

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、分化に必須の転写因子、ケモカインレセプターの関係を図示した。免疫寛容あるいは防御免疫における各種T細胞サブセットの役割および関与する免疫異常も図示している。

た⁴⁾。当初、Th17細胞の分化に必須であると考えられていたサイトカインIL-23は、Th17細胞の分化には必須ではなく、生体内での増殖あるいは高い炎症惹起能の獲得に重要であることが示されている。Th17細胞は、分化とともに、IL-17以外に、IL-17F、IL-21、IL-22、IL-26などのサイトカイン産生能を獲得する。マウスの研究に基づき、ヒトTh17細胞分化機構の探索も行われ、マウスとヒトでは若干違いがあり、TGF-βとIL-6の組み合わせでは、効率的にTh17細胞分化は誘導されず、TGF-βとIL-21によって誘導されると報告された⁵⁾。また、別の報告では、TGF-βとIL-1、IL-6およびIL-21あるいはIL-23が必要であるとする報

告もある。

Th17細胞におけるケモカイン受容体発現制御機構は完全には解明されていないが、いくつかの報告で、TGF-βがCCR6発現を誘導することが示されている^{6,7)}。ナイーブT細胞はほとんどCCR6を発現していないが、CCR6はTh17細胞だけでなく、制御性T細胞にも発現している。ナイーブT細胞をTGF-β存在下で培養すると、制御性T細胞への分化と、CCR6発現が誘導された。一方、TGF-βとIL-6、IL-1、TNF-αなどの炎症性サイトカイン共存下で培養すると、Th17細胞への分化とともに、TGF-βの容量依存性にCCR6発現が誘導された。以上より、T細胞分化過程でCCR6発現



はTGF- β 依存性に制御されていることが示唆される。図1にT細胞サブセットと分化に必要なサイトカイン、転写因子、発現するケモカインレセプターを示す。

ヒト慢性炎症性疾患における Th17細胞のケモカインレセプターの機能

Th17細胞は、種々の慢性炎症性疾患、自己免疫疾患において病態形成に関与するT細胞としての可能性が示唆されている。乾癬は原因不明の慢性炎症性角化性疾患であるが、特にTh17細胞やIL-23の関与が強いと考えられている。乾癬病巣においては、健常皮膚と比較して、有意に高いIL-17, IL-22, ROR γ t mRNAの発現が認められ、Th17細胞の集積が示唆される⁸⁾。

実際、フローサイトメトリーを用いて、乾癬病巣において末梢血あるいは健常皮膚と比較し非常に多くのTh17細胞が集積していることが示され、そのTh17細胞のほとんどがCCR6陽性である。乾癬病巣には正常の約7倍のCCL20, 約4倍のCCR6 mRNAが発現しており、試験管内のmigration assayにおいてCCL20はIL-17産生細胞の移動を誘導した。これらのデータは、乾癬病巣におけるTh17細胞の集積が、病巣での(抗原提示細胞やケラチノサイトによる)CCL20によって誘導されることを示唆している。なお、乾癬病巣に似た病理学的変化(ケラチノサイトの過形成)の成立における、Th17細胞サイトカインIL-22の重要性が示唆されていた。最近、乾癬病巣でIFN- γ やIL-17産生能をもたない、IL-22のみ産生するT細胞が同定されTh22

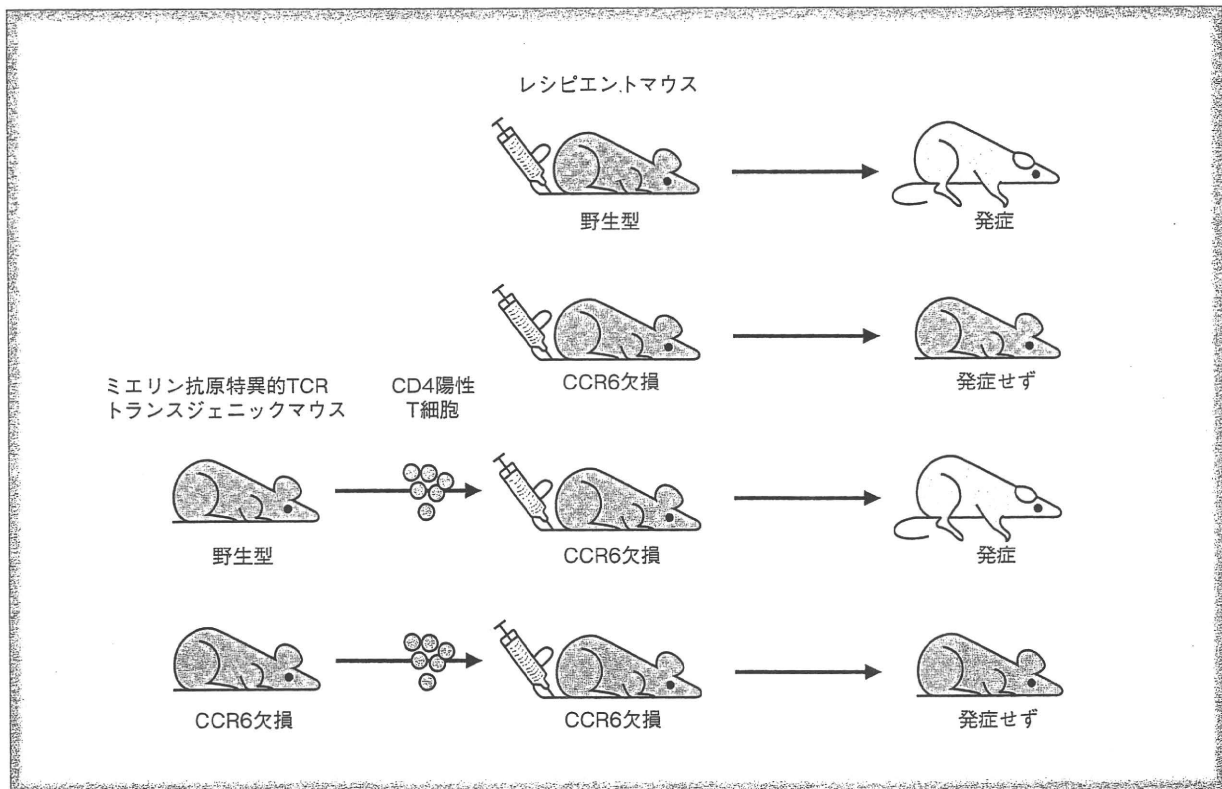


図2 EAE発症には、ミエリン抗原特異的T細胞上のCCR6発現が必要である

野生型あるいはCCR6欠損マウスより取り出したミエリン抗原特異的T細胞をCCR6欠損マウスにあらかじめ移入してEAEを誘導すると、野生型と異なり、CCR6欠損マウス由来のT細胞では、レシピエントマウスにEAEが発症しなかった。したがって、EAEの発症には、ミエリン抗原特異的T細胞におけるCCR6発現が必要であると示唆される。

【テーマ②】 Th17細胞のケモカインレセプターの発現

細胞と提唱されている。この細胞群も Th17 細胞同様 CCR6 陽性であり、かつ CCR4 陽性 CCR10 陽性であると報告されている⁹⁾。また、IL-12 と IL-23 の共通サブユニットに対する中和抗体は、大規模臨床試験において乾癬症状を有意に抑制することが示され、基礎研究の結果に基づく生物学的製剤による治療が実現することとなった¹⁰⁾。

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease ; IBD) においては、全ゲノムの一塩基多型解析から IL-23 受容体遺伝子変異がクローン病のリスクファクターであると報告され、IL-23 の病態形成における重要性が示唆されていたが、近年のバイオプシー検体の試験管内培養で、IBD 病巣検体は正常検体と比較して有意に高い IL-17 産生を認め、病巣から分離したリンパ球においても、Th17 細胞の増加が報告された。一方で、クローン病巣から分離されたリンパ球は高い IL-23 産生能を示すものの、T 細胞由来のサイトカインとしては、IL-17 ではなく、IFN- γ 産生を誘導することが示唆されており、病態形成における Th1 細胞の重要性も高いと考えられる。

MS は、慢性脱髄性中枢神経疾患であるが、髄鞘 (ミエリン) 蛋白を標的とする自己免疫疾患であると考えられている。MS の動物実験モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE) においては、IL-23 および Th17 細胞が、病態形成に重要な役割を果たすことが示されている。最近、EAE の病態形成における CCR6 の重要性が報告された。CCR6 欠損マウスに EAE を誘導したところ、野生型と異なり、発症しなかった。そこで、野生型あるいは CCR6 欠損マウスよりミエリン抗原特異的 T 細胞を取り出し、CCR6 欠損マウスにあらかじめ移入して EAE を誘導すると、野生型と異なり、CCR6 欠損マウス由来の T 細胞では、レシピエントマウスは EAE を発症しなかった (図 2)¹¹⁾。このとき、野生型あるいは CCR6 欠損マウス由来の T 細胞による IL-17 産生量に違いはなく、CCR6 欠損マウスにおける Th17 細胞分化には問題がなかった。したがって、末梢で活性化したミエリン抗原特異的 Th17 細胞が、

中枢神経系に侵入する際に、CCR6 の働きが重要であると示唆される。そのメカニズムとして、中枢神経系脈絡叢の上皮細胞には恒常的に CCL20 が高発現しており、非炎症状態の中枢神経系への免疫系細胞の侵入に重要である可能性が示された。EAE 発症初期に Th17 細胞が CCR6-CCL20 シグナルを介して中枢神経系に侵入することが提唱されている。また、この結果は、Th17 細胞の制御に、ケモカインレセプターシグナルの抑制が有効である可能性を示している。

おわりに

新たに確立された T 細胞分化系列である Th17 細胞は、高い炎症惹起能を有し、種々のヒト慢性炎症性疾患の病態形成に関与していることが示唆されている。Th17 細胞が発現するケモカインレセプターは、基礎研究において非常に有用なバイオマーカーとなっているだけでなく、慢性炎症性疾患の診断への利用や、Th17 細胞の制御を介する新規治療標的としての可能性も有している。

References

- 1) Sato W, Aranami T, Yamamura T : Cutting edge : Human Th17 cells are identified as bearing CCR2⁺CCR5⁻ phenotype. *J Immunol* 178 : 7525-7529, 2007
- 2) 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* 8 : 639-646, 2007
- 3) Bettelli E, Carrier Y, Gao W et al : Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 441 : 235-238, 2006
- 4) Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L et al : The orphan nuclear receptor ROR γ t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. *Cell* 126 : 1121-1133, 2006
- 5) Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C et al : IL-21 and TGF- β are required for differentiation of human T(H)17 cells. *Nature* 454 : 350-352, 2008
- 6) Manel N, Unutmaz D, Littman DR : The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming



- growth factor- β and induction of the nuclear receptor ROR γ t. *Nat Immunol* **9** : 641-649, 2008
- 7) Rivino L, Gruarin P, Häringer B et al : CCR6 is expressed on an IL-10-producing, autoreactive memory T cell population with context-dependent regulatory function. *J Exp Med* **207** : 565-577, 2010
- 8) Wilson NJ, Boniface K, Chan JR et al : Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol* **8** : 950-957, 2007
- 9) 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* **10** : 857-863, 2009
- 10) Krueger GG, Langley RG, Leonardi C et al : A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. *N Engl J Med* **356** : 580-592, 2007
- 11) 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* **10** : 514-523, 2009



核内受容体を標的とした Th17 細胞制御と
自己免疫疾患

はじめに

多発性硬化症 (multiple sclerosis ; 以下 MS) は, 中枢神



みにれびゆう

経系の脱髄を主徴とし、Th1細胞やTh17細胞などのエフェクターT細胞の機能亢進による組織障害が病態形成に深く関わる典型的な炎症性自己免疫疾患である^{1,2)}。したがって病原性T細胞制御の観点からMSの病態を理解することは、本疾患の予防や治療への根本的な道を開くことにつながると考えられる。このような観点から、我々はMSの新規治療標的の同定を目的として、MS患者末梢血T細胞の網羅的遺伝子発現解析を行い、健常者に比較してMS患者T細胞で発現が変動する一連の遺伝子群の同定に成功した³⁾。そのなかで、MS患者で最も高い有意差をもって発現亢進を認めた遺伝子として同定したオーファン核内受容体NR4A2は、MSの動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis: 以下EAE) マウス由来の中枢神経浸潤T細胞でも発現の亢進が認められた。さらにT細胞のNR4A2発現レベルに相関して炎症性サイトカインの産生が変動し、一方NR4A2特異的siRNA処理によりpassive EAEモデルにおけるEAE病態が有意に抑制されたことから、NR4A2が病原性T細胞の機能亢進と病態形成に深く関わる可能性が示された⁴⁾。本稿では、自己免疫病態形成に関わるT細胞の炎症性サイトカイン産生におけるNR4A2の機能について、これまでに我々が明らかにした知見を中心に紹介する。

1. オーファン核内受容体NR4A2

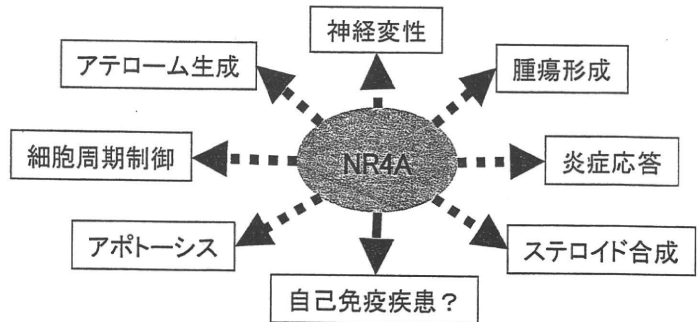
ヒトの核内受容体は48種類の異なる分子からなるファミリーをなしており、エストロゲン受容体、グルココルチコイド受容体や脂溶性ビタミン受容体などを含む^{5,6)}。病原性T細胞を構成するTh17細胞と核内受容体の関わりを考えた時、東の横綱はTh17細胞のマスター制御分子レチノイドオーファン受容体ROR γ /NR1F3⁷⁾で、西の横綱がリガンド依存性にTh17細胞機能抑制能をもつレチノイン酸受容体RAR α /NR1B1⁸⁾といったところであり、Th17細胞と核内受容体との関わりは予想以上に深いことを再認識させられる。さてNR4Aファミリー分子はNR4A1 (NGFB-I/Nur77), NR4A2 (Nurr1), NR4A3 (NOR1) の3種からなる⁹⁾。NR4Aファミリー分子は図1に示すような様々な生体応答に関与し、その一部には分子間の機能的オーバーラップが認められる。このなかでNR4A2の発現部位は主に中枢神経系に集中しており、なかでも中脳腹側、脳幹や脊髄に強い発現を認める。免疫学との関連では、T細胞受容体の架橋や炎症性サイトカインなどの刺激により、T細胞で一過性に発現誘導される immediate early gene として知られている。NR4Aファミリー分子は、核内受容体分子

間に共通の複数の機能ドメインからなる (図1)。このうち二つのZnフィンガーからなるN末側のDNA結合ドメイン (DBD) は、受容体間で非常に良く保存されており、標的分子プロモーター内の応答配列への結合に関わる。C末側に位置するリガンド結合ドメイン (LBD) は、各分子間での多様性が高く、通常それぞれ異なるリガンドを認識する。リガンドが結合した核内受容体ではAF2ドメインのコンフォメーションが変化し、末端のヘリックス12が活性型の配向をとると、コリプレッサーを遊離してコアクチベーターと会合するようになり転写活性化能を獲得する。一方、リガンドが未知の核内受容体はオーファン受容体と呼ばれ、NR4Aファミリー分子もこの中に含まれる。構造解析の結果、NR4A2のLBDはかさ高い芳香環や疎水性の側鎖をもつアミノ酸に覆われており、典型的なリガンド結合ポケットがないことが示されている¹⁰⁾。NR4A2のヘリックス12は、リガンド非依存的に活性型受容体類似のコンフォメーションをとることが分かり、現在ではリガンド非依存的に転写活性化能を有するものと考えられている。

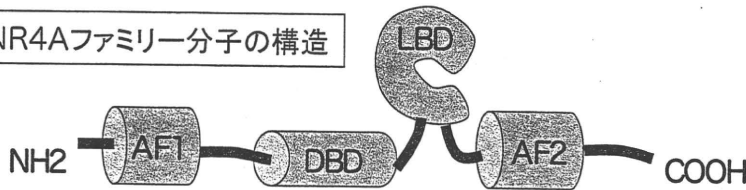
2. NR4A2の誘導因子と標的分子⁹⁾

NR4A2は、脂肪酸、プロスタグランジン、カルシウム、増殖因子、ペプチドホルモン、神経伝達分子など、実に様々な因子に応答して急速に発現が誘導される。これらの刺激で活性化されたNF- κ BあるいはCREBがプロモーターの転写活性化領域に結合することで、NR4A2遺伝子が発現されると考えられている。一方、NR4A2タンパク質はリガンド非依存的に認識配列に結合し、下流の遺伝子発現を誘導する (図2)。このようにNR4A2分子の機能制御は、主に誘導因子による転写誘導レベルで行われている。NR4Aファミリー分子の認識配列としては、①(A/T)AAAGGTCA配列からなるNBRE (NGFI-B response element; 単量体あるいは二量体のNR4A分子が結合)、②NBRE類似のAAAT (G/A) (C/T) CAの逆向き繰り返し配列からなるNurRE (Nur-responsive element; プロオピオメラノコルチン (POMC) プロモーターに存在)、③DR5配列 (レチノイドX受容体 (RXR) とのヘテロダイマー形成による) の3種が知られている。NR4A2の標的遺伝子として最も良く解析されている遺伝子の一つがチロシンヒドロキシラーゼ (TH) 遺伝子であり、NR4A2依存的なドパミン (DA) の産生は、TH遺伝子プロモーターに存在するNBREを介して誘導される。NR4A2を欠くマウスでは中脳黒質のドパミン産生ニューロンの形成が障害さ

分類名	別名
NR4A1	NGFI-B, Nur77
NR4A2	Nurr1, NOT, RNR1
NR4A3	NOR1, MINOR



NR4Aファミリー分子の構造



AF1/2; activation function 1, 2
DBD; DNA binding domain
LBD; ligand binding domain

炎症性サイトカイン(IL-1, TNF- α など)
各種増殖因子、プロスタグランジンE₂
Aキナーゼ賦活剤、T細胞受容体架橋

チロシンヒドロキシラーゼ
プロオピオメラノコルチン(POMC)
炎症性サイトカイン(IL-17・IFN- γ など)

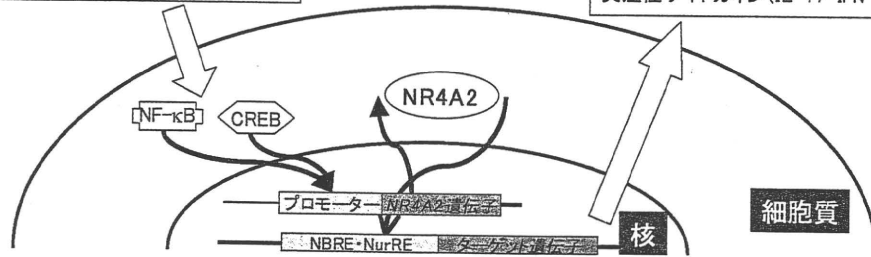


図1 NR4A 核内受容体ファミリー分子

NR4A ファミリー分子は3種の分子からなり、核内受容体分子に共通の構造を有する。生理的なりガンドは不明であるが、さまざまな生体応答に関わる。NR4A2は、プロスタグランジン、増殖因子、炎症性サイトカインやT細胞受容体架橋に応答して発現が誘導され、これはNF- κ BあるいはCREBの活性化を介すると考えられている。一方、このようにして発現したNR4A2分子は、NBRE (NGFI-B response element), NurRE (Nur-responsive element), DR5などの特定の配列を認識してターゲット遺伝子の発現を誘導する。これまでにチロシンヒドロキシラーゼを筆頭に、複数のターゲット遺伝子が報告されている。

れ¹¹⁾、さらに家族性パーキンソン病の一部にNR4A2の遺伝子異常が見いだされたことから¹²⁾、TH発現におけるNR4A2の重要性が再認識されている。他にもNR4A2の標的探索を目指した個別の解析から複数の標的遺伝子が報告されており、NR4A2は中枢神経機能制御のみならず、さまざまな領域に深く関わる可能性が示されている。

3. T細胞機能とNR4Aファミリー分子

免疫系におけるNR4Aファミリー分子の機能に関しては、T細胞アポトーシス誘導、および胸腺での「負の選択」におけるNR4A1分子の機能がとくに詳細に解析されてい

る¹³⁻¹⁶⁾。TCR刺激によるカルシウム流入に伴って活性化したMEF2は、NR4A1発現を介してT細胞アポトーシスを引き起こす。一方で、この経路はNR4A1分子とBcl2分子との分子間相互作用を介した制御を受ける。つまりMEF2と結合した転写抑制因子Cabin1は、MEF2とp300の結合を阻害するとともに、mSin3との結合を介してHDAC1/2をリクルートすることにより、MEF2によるNR4A1の誘導経路を遮断してアポトーシスを抑制すると考えられている(挿絵参照)¹⁷⁾。一方、NR4A1欠損マウスの胸腺および末梢のT細胞アポトーシスには大きな異常はなく、胸腺などで共発現するNR4A2などの他の分子がNR4A1欠損

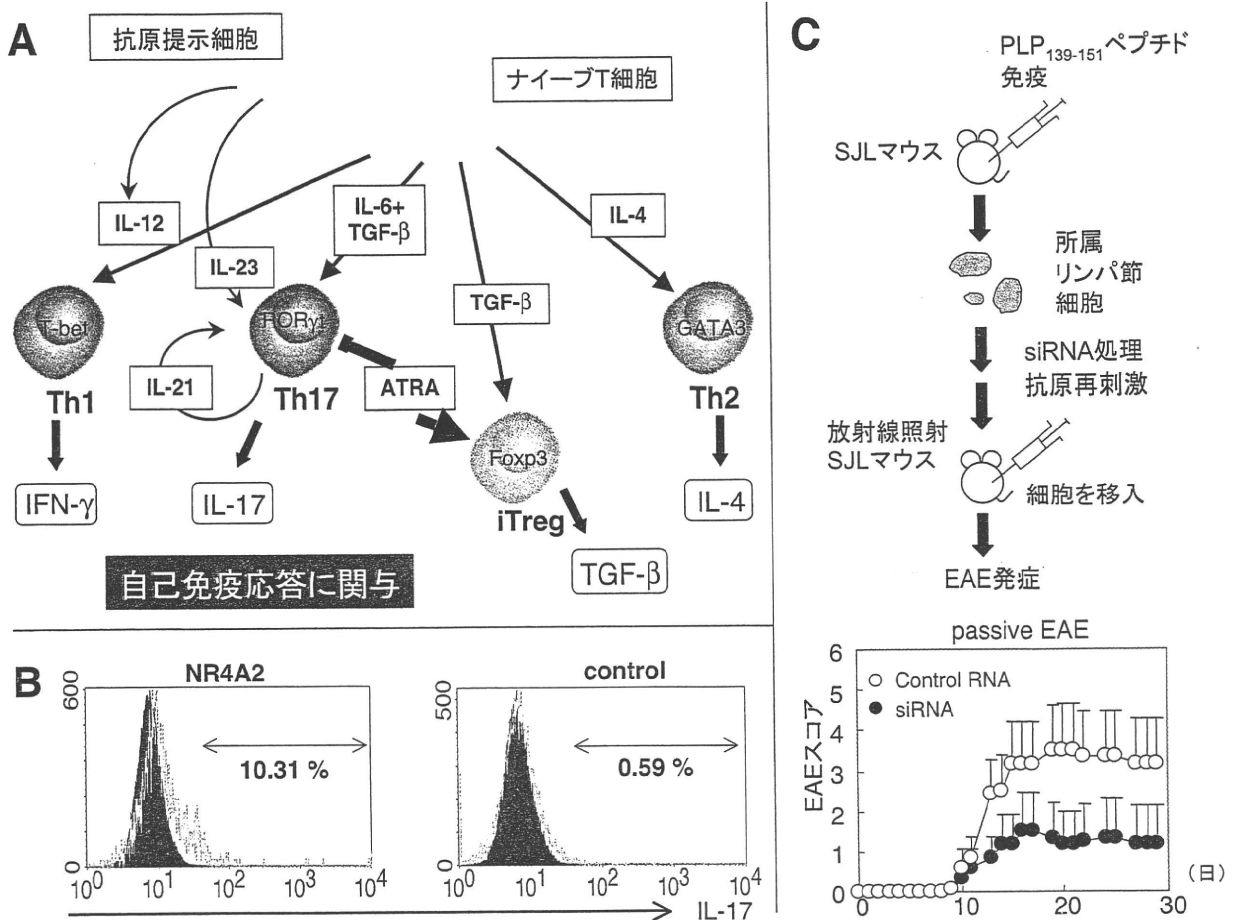


図2 自己免疫応答と Th17 細胞機能に対する NR4A2 の役割

(A) ナイーブ T 細胞が抗原提示細胞上の抗原を認識すると、種々のサイトカイン環境依存性にそれぞれ機能的に異なる T 細胞 (Th1/Th2/Th17/iReg) へと分化する。自己免疫の観点からは、Th1 細胞と Th17 細胞の両方が自己免疫病態に関与すると考えられており、双方の細胞機能を制御することが重要な課題である。

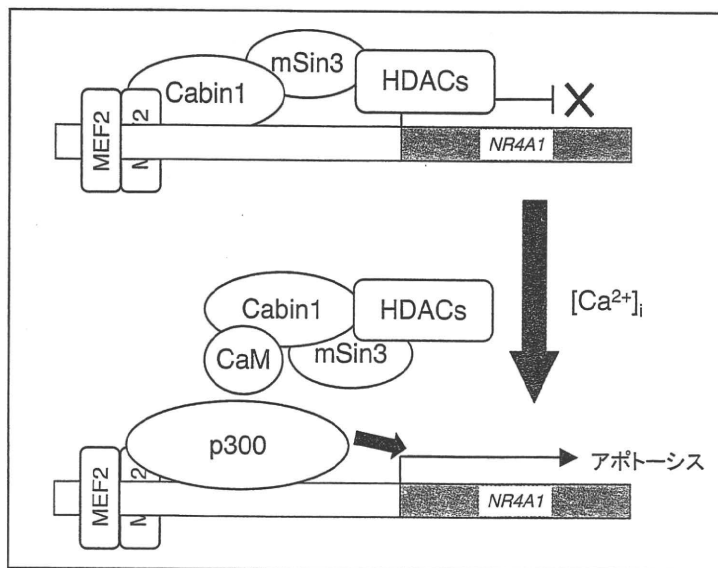
(B) NR4A2 遺伝子を IRES-GFP の上流に組み込んだレトロウイルスとコントロールウイルスを、それぞれマウス脾臓 CD4 陽性 T 細胞に感染させ、GFP 陽性細胞の炎症性サイトカイン産生を、細胞内サイトカイン染色法を用いて比較した。NR4A2 発現細胞 (GFP 陽性細胞) では、対照に比べて IL-17 の産生が増強している (0.59% vs 10.31%)。

(C) PLP₁₃₉₋₁₅₁ ペプチドを免疫した SJL マウスの所属リンパ節細胞に、NR4A2 特異的 siRNA あるいはコントロール RNA を遺伝子導入した。抗原ペプチド存在下で 3 日間培養して再刺激した細胞を、放射線照射した SJL マウスに移入し、EAE を誘導した。NR4A2 特異的 siRNA 処理群の EAE スコアは、コントロール群に比べて病態の軽化が認められた。

を補完することにより、強い表現型の発現を抑制しているものと予想される。一方、NR4A2 欠損マウスでは、中脳のドパミン産生ニューロンの欠損が著しく、胎児は生後すぐに死亡する。この NR4A2 欠損マウスの表現型は NR4A1 や NR4A3 では補完できないことから、NR4A2 独自のユニークな機能の存在を強く示唆している。NR4A2 欠損マウスは、生後の長期維持が不可能なため、免疫系を含む成体の機能異常の解析は難しく、コンディショナル欠損マウスなどを用いた解析が待たれる。

4. 自己免疫疾患における NR4A2 の役割

MS などの自己免疫疾患では、炎症性 T 細胞が脳炎惹起に重要な役割を果たす。エフェクター CD4 陽性 T 細胞は、複数の機能的に異なる細胞群に分類されるが、以前より知られていた Th1 細胞、Th2 細胞に加えて、Th17 細胞¹⁸⁾と制御性 T 細胞¹⁹⁾の発見を契機に、より複雑さを増している (図 2)。MS の病態形成初期には、Th1 細胞や Th17 細胞に代表される自己反応性 T 細胞が決定的な役割を果たすと



(文献 17 より改変)

考えられており、このような病原性 T 細胞の遺伝子発現解析は、新規治療標的の探索に有効な手段である。我々は、DNA マイクロアレイを用いた MS 患者末梢血 T 細胞の網羅的遺伝子発現解析を通じて、MS 由来 T 細胞で発現が変動している遺伝子群を解析し、NR4A2 を含む興味深い遺伝子群を同定した³⁾。エフェクター T 細胞における NR4A2 の機能をより詳細に探るため、以後 MS のマウスモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (以下 EAE) における NR4A2 の挙動を追うこととした⁴⁾。

EAE は、中枢神経系に発現するミエリン・オリゴデンドロサイト糖タンパク質 (MOG) やプロテオリピッドタンパク質 (PLP)、ミエリン塩基性タンパク質 (MBP) などに由来する脳炎惹起性ペプチドをマウスに免疫することで発症が誘導できる。MOG₃₅₋₅₅ ペプチドを免疫することにより EAE を発症した C57BL/6 マウスから T 細胞を分離し、NR4A2 の発現レベルを定量 PCR 法により比較したところ、中枢神経系浸潤 T 細胞および末梢血 T 細胞で、選択的な NR4A2 の発現亢進が検出された。中枢神経系浸潤 T 細胞のなかの約 3 割が IL-17 産生細胞であったことから、NR4A2 と IL-17 産生との間に何らかの関連がある可能性を予想してさらに検討を加えた。まず NR4A2 の発現亢進が、T 細胞の炎症性サイトカイン産生に与える影響を調べるため、IL-17 遺伝子プロモーターを含むレポーター遺伝子をマウス T 細胞株である EL4 細胞に導入してルシフェラーゼアッセイを試みたところ、NR4A の共発現によりルシフェラーゼ活性が有意に増強した。さらにレトロウ

イルスを用いて、脾臓 T 細胞に NR4A2 分子を過剰発現させると、TCR 刺激後の IL-17 産生が選択的に亢進した (図 2)。次にあらたに設計した NR4A2 特異的 siRNA を用いて、ヒト T 細胞の炎症性サイトカイン産生に与える影響を検討した。健康人由来末梢血 CD4 陽性 T 細胞を siRNA 処理した後抗 CD3 抗体で活性化して炎症性サイトカイン産生を調べた結果、NR4A2 特異的 siRNA 処理した T 細胞における IL-17 産生は有意に抑制された。本 siRNA は、MS 患者由来末梢血 CD4 陽性 T 細胞の炎症性サイトカイン産生に対しても抑制的に作用することが明らかとなった。一連の結果から、T 細胞における NR4A2 発現量と炎症性サイトカインの産生に正の相関があることが示された。本 siRNA の配列は、ヒト・マウス間で完全に保存されていたことから、EAE マウスにおける病原性 T 細胞の機能に対する siRNA の効果を検討した。PLP₁₃₉₋₁₅₁ ペプチドを SJL マウスに免疫して得られた抗原特異的 T 細胞を、放射線照射により T 細胞を除去した SJL マウスに移入する passive EAE モデルにおいて、*in vitro* で抗原刺激した T 細胞を NR4A2 特異的 siRNA で処理すると、移入後の EAE は有意に軽症化した (図 2C)。これらの結果は、NR4A2 が病原性に深く関わる Th17 細胞機能と関連していることを示しており、NR4A2 の発現あるいは機能制御を介して自己免疫病態が制御できるのではないかと考えている。

5. 自己免疫疾患治療標的としての核内受容体

核内受容体の約半数はいまだリガンドが未知のオーファン受容体であり、個々の機能は、その多くが不明のままである。一連の結果は、NR4A2がMS治療標的候補であることを示しているが、有効なリガンド化合物の創製なしには、さらなる臨床応用研究への展開は難しい。PPARなどの核内受容体においては、代謝制御因子としての生理機能が次々と明らかとなったことを皮切りに、高脂血症改善作用を有するフィブラート系PPAR- α 作動薬や、糖尿病治療作用を有するチアゾリジン系PPAR- γ 作動薬などの臨床応用が実現しており、核内受容体の新規リガンドの探索は創薬の観点からも非常に重要な研究領域であるといえる。免疫系、特にTh17細胞の制御に限ってみても、例えば天然型レチノイン酸および合成RARアゴニストが、Th17細胞分化の抑制と制御性T細胞の誘導を介して効果的に自己免疫応答を抑制することなどが明らかとなっており^{8,20)}、新規自己免疫疾患治療法としての合成RARアゴニストも注目を集めている。病原性T細胞と炎症性サイトカインの制御法の確立は、MSに限らず幅広い自己免疫疾患への展開が期待できるため、今後、NR4A2を標的とした治療戦略の実現に向けて研究を進めていく予定である。

おわりに

MSの病態解明を目的とした研究の過程で我々が新たに見いだしたオーファン核内受容体NR4A2の、免疫系とくに活性化T細胞の炎症性サイトカイン産生における機能と役割を中心に紹介した。本文でも述べたように、Th17細胞には様々な核内受容体の関与が示されているが、これは他のエフェクターT細胞との際だった違いであり、複数の核内受容体が複雑に関わり合いながらTh17細胞を制御していると思われる。特にTh17細胞機能に対するNR4A2の作用は全くといっていいほど分かっておらず、その分子機構を明らかにすることが急務であると思われる。

- 1) Aranami, T. & Yamamura, T. (2008) *Allergol. Int.*, 57, 115-120.
- 2) McFarland, H.F. & Martin, R. (2007) *Nat. Immunol.*, 8, 913-919.
- 3) Satoh, J., Nakanishi, M., Koike, F., Miyake, S., Yamamoto, T., Kawai, M., Kikuchi, S., Nomura, K., Yokoyama, K., Ota, K., Kanda, T., Fukazawa, T., & Yamamura, T. (2005) *Neurobiol. Dis.*, 18, 537-550.
- 4) Doi, Y., Oki, S., Ozawa, T., Hohjoh, H., Miyake, S., & Yama-

- mura, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 105, 8381-8386. Epub 2008 Jun 8 311.
- 5) A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily. (1999) *Cell*, 97, 161-163.
- 6) Robinson-Rechavi, M., Escriva Garcia, H., & Laudet, V. (2003) *J. Cell Sci.*, 116, 585-586.
- 7) Ivanov, II, McKenzie, B.S., Zhou, L., Tadokoro, C.E., Lepelley, A., Lafaille, J. J., Cua, D.J., & Littman, D.R. (2006) *Cell*, 126, 1121-1133.
- 8) Mucida, D., Park, Y., Kim, G., Turovskaya, O., Scott, I., Kronenberg, M., & Cheroutre, H. (2007) *Science*, 317, 256-260. Epub 2007 Jun 2014.
- 9) Maxwell, M.A. & Muscat, G.E. (2006) *Nucl. Recept. Signal.*, 4, e002. Epub 2006 Feb 2008.
- 10) Wang, Z., Benoit, G., Liu, J., Prasad, S., Aarnisalo, P., Liu, X., Xu, H., Walker, N.P., & Perlmann, T. (2003) *Nature*, 423, 555-560.
- 11) Zetterstrom, R.H., Solomin, L., Jansson, L., Hoffer, B.J., Olson, L., & Perlmann, T. (1997) *Science*, 276, 248-250.
- 12) Le, W.D., Xu, P., Jankovic, J., Jiang, H., Appel, S.H., Smith, R.G., & Vassilatis, D.K. (2003) *Nat. Genet.*, 33, 85-89. Epub 2002 Dec 2023.
- 13) Calnan, B.J., Szychowski, S., Chan, F.K., Cado, D., & Winoto, A. (1995) *Immunity*, 3, 273-282.
- 14) Cheng, L.E., Chan, F.K., Cado, D., & Winoto, A. (1997) *Embo J.*, 16, 1865-1875.
- 15) Liu, Z.G., Smith, S.W., McLaughlin, K.A., Schwartz, L.M., & Osborne, B.A. (1994) *Nature*, 367, 281-284.
- 16) Woronicz, J.D., Calnan, B., Ngo, V., & Winoto, A. (1994) *Nature*, 367, 277-281.
- 17) Youn, H.D. & Liu, J.O. (2000) *Immunity*, 13, 85-94.
- 18) Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., Kuchroo, V.K. (2009) *Annu. Rev. Immunol.*, 8, 8.
- 19) Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T., & Ono, M. (2008) *Cell*, 133, 775-787.
- 20) Klemann, C., Raveney, B.J.E., Klemann, A.K., Ozawa, T., von Hörsten, S., Shudo, K., Oki, S., & Yamamura, T. (2009) *Am. J. Pathol.*, 174, 2234.

大木 伸司

((独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所
免疫研究部)

Manipulation of Th17-mediated autoimmunity by targeting nuclear receptors
Shinji Oki (Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP, 4-1-1 Ogawahigashi, Kodaira, Tokyo 187-8502, Japan)

多発性硬化症の病態解析から 新規治療法の開発へ

大木伸司

Shinji OKI

(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所免疫研究部

1 はじめに

多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) は、中枢神経系の脱髄を主因とする炎症性自己免疫疾患であり、エフェクター T 細胞の自己応答性獲得による軸索の組織障害と、これに伴う電導障害が病態に深く関わっている。^{1,2)} よって免疫制御破綻の観点から MS の病態を理解することは、本疾患の予防や治療への根本的な道を開くと期待される。現在用いられている MS 治療薬には、インターフェロン・ベータ (IFN- β)、抗炎症性ステロイドや免疫抑制剤などがあり、いずれもある程度の効果は得られているものの対症療法的な色合いも濃く、その作用機序の多くは不明なままである。

一方、我が国において治験の途上にある薬剤として、ペプチド製剤コパキソン (glatiramer acetate)、抗 VLA-4 抗体製剤タイサブリ、スフィンゴシン 1 リン酸受容体作動薬 FTY 720 (fingolimod) などがある。コパキソンは 4 種のアミノ酸からなるランダムコポリマー*で、いわゆる改変ペプチド抗原 (altered peptide ligand ; APL) のように、抗原特異的な T 細胞応答の修飾効果を狙っている。また、タイサブリは病原性リンパ球と血管内皮細胞との VLA-4 を介した接着を抑えることで、FTY 720 は二次リンパ組織からの病原性リンパ球の流出を抑えることで、中枢神経系への炎症細胞浸潤を抑制する効果が期待されている。これらの薬剤は、近年の基礎免疫学の進歩により得られた、科学的な根拠に基づく次世代の MS 治療薬候補といえる。このように、病原性リ

ンパ球の機能制御を標的とした新規 MS 治療法の探索は有望な研究対象であり、本稿では私たちが進めてきた代表的な試みを、以下に紹介する。

2 エフェクター T 細胞の分化と自己免疫疾患

自己抗原反応性を獲得した炎症性エフェクター T 細胞が中枢神経系に浸潤し、これを障害することで MS 病態が形成される。これまで、ナイーブ T 細胞から抗原依存性に分化したエフェクター T 細胞には、主に IFN- γ を産生する Th 1 細胞と IL-4 を産生する Th 2 細胞があり、Th 1 細胞は自己免疫病態に促進的に作用する一方、Th 2 細胞は病態抑制に関わると言われてきた。ところが近年の研究の進展により、炎症性サイトカインである IL-17 を産生する Th 17 細胞と、各エフェクター T 細胞の機能を抑制する制御性 T 細胞が発見され、^{3,4)} 実は Th 17 細胞が Th 1 細胞をしのぐ強力な病原性 T 細胞であることが明らかとなった (図 1)。よって最近では、この Th 17 細胞の機能制御が有効な自己免疫疾患制御法につながると期待されており、大いに注目を集めている。以下に紹介する私たちの研究は、具体的な方法こそ違いますが、いずれもこのような発想に基づいて展開されている。

1. iNKT 細胞を標的とした MS 治療戦略

iNKT (invariant natural killer T) 細胞は、NK 細胞と T 細胞の表現型を共有する極めてユニークな細胞であり、活性化すると IFN- γ や IL-4 などのサイトカインを短時間に大量に産生するため、体内の免疫応答バランスの調節細胞と考えられている。⁵⁾ また、多様性に富む T 細胞受容体 (TCR) を発現する通常の T 細胞と異なり、iNKT 細胞の TCR は

* ランダムコポリマーについての用語解説は、781 頁参照。

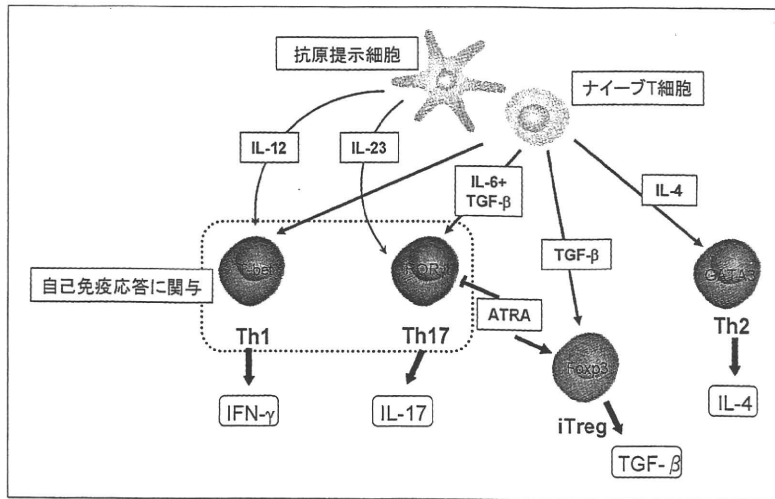


図1 ヘルパーT細胞の分化と機能

自己免疫応答の観点からは、IFN- γ 産生性のTh1細胞とIL-17産生性のTh17細胞は、いずれも自己免疫病態を引き起こす病原性T細胞集団であると考えられており、双方の細胞機能をコントロールできる新たな制御法の確立が重要な課題となっている。

1つの α 鎖が2~3種類の β 鎖と複合体を形成し、MHC類縁分子であるCD1d上に提示された特定の糖脂質を抗原として認識する。強力な外来性の糖脂質抗原としては α -ガラクトシルセラミド(α -GalCer)があるが、私たちは α -GalCerのスフィンゴシン鎖を短縮した改変糖脂質抗原OCHが、IFN- γ 産生を誘導することなくIL-4を産生させることで、実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)やコラーゲン誘導性関節炎(CIA)などのマウス自己免疫疾患モデルに対して病態抑制効果を発揮することを見いだした。^{6,7)} さらに、 α -GalCerがIFN- γ とIL-4の産生をともに誘導する一方で、OCHが選択的にIL-4産生を誘導する分子機序に興味を持ち、そのメカニズムの解明を試みた。

実験を始めてまず分かったことは、 α -GalCerから徐々にスフィンゴシン鎖を短縮していくと、CD1d分子からの解離がより速やかになるということであった。そしてスフィンゴシン鎖が短くなると、iNKT細胞からのIL-4産生はあまり変わらないが、IFN- γ 産生が著しく減少した。また、iNKT細胞からのIFN- γ 産生はNF- κ Bファミリー分子c-Relの発現に依存しており、c-Rel発現にはより持続的な刺激が必要であることから、OCHはこれらの理由によりIL-4を選択的に誘導するものと結論付けた。⁸⁾ さらに、 α -GalCer刺激後のiNKT細胞

に発現したCD40Lを介して活性化した樹状細胞が産生するIL-12は、NK細胞などの周辺細胞からの二次的なIFN- γ 産生を誘導するのに対し、OCHはNKT細胞のCD40L発現を誘導しなかった。

一方、CpGオリゴデオキシヌクレオチド(CpG-ODN)などのTLRリガンドの存在下では、樹状細胞のIL-12産生とNK細胞のIFN- γ 産生が底上げされ、OCHによる選択的IL-4産生誘導効果は消失したことから、OCHの作用は生体の感染や炎症の状態に応じて変動することが示された(図2)。⁹⁾ CD1d分子には多型がなく、iNKT細胞を標的とした糖脂質療法は臨床応用上大きな利点を有しているが、その一方で望ましいサイトカイン産生のみを誘導すべく、生体の自然免疫応答状態を正確に把握することが重要と考えられた。引き続き進められた一連の研究により、現在当センターでMSを対象としたOCHの治療が開始されるに至っている。

2. レチノイン酸受容体を標的とした治療戦略

前述のとおり、近年Th17細胞機能制御を介した新規MS治療法の開発に期待が寄せられているが、最近ビタミンAの活性代謝産物であるall-transレチノイン酸(ATRA)が、Th17細胞分化を強力に抑制することが示された。¹⁰⁾ しかしATRAには極めて多様な生理機能があるうえ、脂肪組織などに容易に蓄積し血中濃度が速やかに低下することや、受

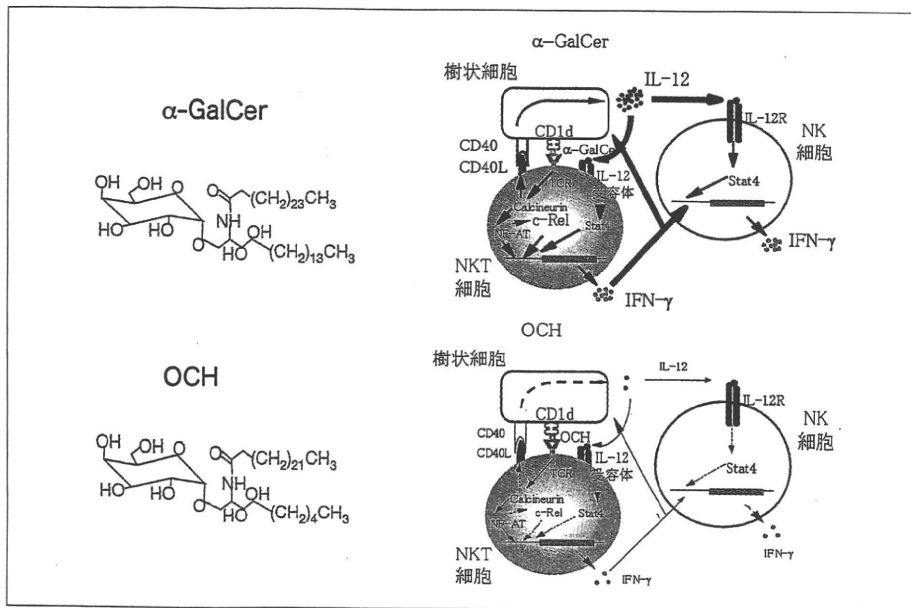


図2 NKT細胞に対する α GalCerとOCHの作用機序と選択的なサイトカイン産生
 α -GalCerとOCHの作用の違いは、NKT細胞に対する直接作用にとどまらず、周辺細胞を介した二次的な細胞応答にまで及ぶと考えられる。

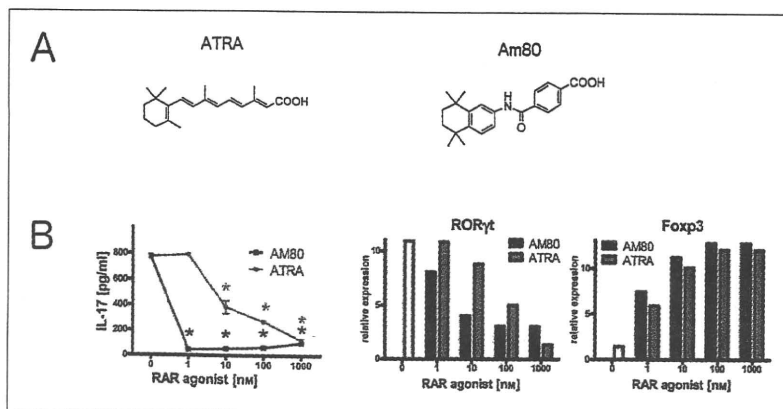


図3 Th17細胞依存性自己免疫応答に対するレチノイドの効果

A; レチノイン酸(ATRA)及びAm80の構造。B; ATRAあるいはAm80存在下にTh17細胞分化を誘導すると、Th17細胞マーカーROR γ tの発現とIL-17産生が顕著に抑制され、制御性T細胞マーカーFoxp3が相対的に増加する。Am80の作用は、相対的にATRAより強い。

容体選択性を欠くことによる副作用の可能性が、ATRAの臨床応用の拡大を阻んでいる。EAEの抑制に、比較的大量のATRAを腹腔内投与しないと効果が得られないことも分かっていた。

私たちは、比活性と受容体選択性に優れた合成レチノイドの中から、急性前骨髄球性白血病(APL)治療薬として我が国で承認されている合成レチノイドAm80(タミバロテン)が、ATRAをしのぐTh17細胞制御効果を有することを見いだした。¹¹⁾ マウス

脾臓由来ナイーブT細胞をTh17細胞分化条件下(IL-6+TGF- β)で抗CD3抗体刺激すると、数日以内に高いIL-17産生が誘導できる。ここにAm80あるいはATRAを添加すると、Th17細胞マーカー遺伝子であるROR γ t発現とIL-17産生が濃度依存的に抑制され、制御性T細胞マーカーであるFoxp3の発現が誘導された。Am80は、いずれの指標においてもATRAより強い効果を示した(図3)。EAEマウスにAm80を隔日経口投与する