

と、発症前後の投与開始のいずれでも発症が有意に抑制された。このとき、自己抗原特異的な IL-17 産生が有意に抑制され、中枢神経系への Th 17 細胞の浸潤も低下していたことから、MS 治療薬候補としての期待が高まっている。¹²⁾

ところが、Am 80 を連投した EAE マウスでは、徐々に病態抑制効果が減弱する傾向が認められたため、その原因を探ることにした。予想に反して、Am 80 の連投により病態抑制効果が減弱した EAE マウスでも IL-17 産生は依然として抑制されており、病態抑制効果の消失は IL-17 産生抑制の解除によるものではなかった。実は Am 80 の長期投与により、免疫抑制性サイトカインである IL-10 の産生が有意に低下していた。IL-10 は、EAE 病態の回復期に働く重要な制御性サイトカインであることから、IL-10 の産生低下が病態抑制解除の原因である可能性が考えられ、Am 80 は IL-17 の関与が大きい急性期の病態への適用が望ましいと思われた。合成レチノイド Am 80 は、副作用のリスクだけでなく医薬品としての体内動態も ATRA より優れており、APL の治療薬として使用されていることから、適用拡大による有望な新規 MS 治療薬候補であると思われた。

3. オーファン核内受容体 NR 4 A 2 の機能解析へ

以前に私たちが、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¹³⁾により同定したオーファン核内受容体 NR 4 A 2 は、Nurr1 としても知られる核内受容体分子の 1

つであり、NGFB-I/Nur77 (= NR 4 A 1), NOR1 (= NR 4 A 3) とともに NR 4 A ファミリーに属する。¹⁴⁾ NR 4 A ファミリー分子は様々な生体応答に関わり、免疫系においては、T 細胞で一過性に発現誘導される即時型遺伝子 (immediate early gene ; IEGs) として知られる以外、その機能の詳細は不明であった。NR 4 A ファミリー分子はオーファン受容体であり、リガンド非依存的に転写活性化能を有するため、その機能は主に転写レベルで制御されると考えられる。さらに、NR 4 A 2 欠損マウスでは NR 4 A 1 や NR 4 A 3 と異なり、中脳のドーパミン産生ニューロンの形成不全により胎児は生後すぐに死亡することからも、機能の独自性が強くうかがわれる。EAE マウスの T 細胞でも NR 4 A 2 の発現が亢進することが分かったため、このモデルを用いて病態との関連を解析することにした。

EAE マウスの中枢神経系には IL-17 産生性の炎症性 T 細胞が多数浸潤することから、T 細胞の NR 4 A 2 発現と IL-17 産生との相関を検討した。レポーター解析や遺伝子導入実験から、NR 4 A 2 が発現すると IL-17 遺伝子の転写及び IL-17 産生が有意に亢進することが分かった。一方、RNA 干渉法により NR 4 A 2 発現を抑制すると、IL-17 産生は有意に抑制された。さらに、SJL マウスにプロテオリピッドプロテイン (PLP) 由来ペプチドを免疫して誘導した自己反応性 T 細胞を、siRNA 処理してからペプチドで再刺激し、ナイーブマウスに移入して

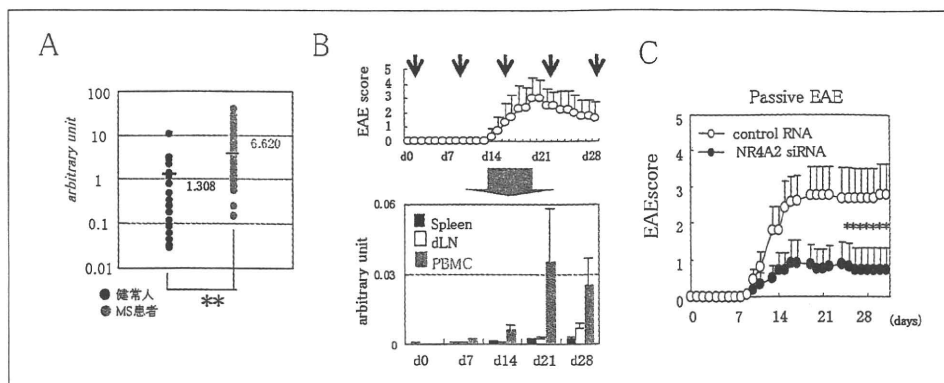


図 4 Th 17 細胞依存性自己免疫応答における NR 4 A 2 の機能

A : MS 患者末梢血 T 細胞では、有意な NR 4 A 2 発現の亢進を認める (定量 PCR 法)。B : EAE マウスの末梢血 T 細胞でも、病態に相関した NR 4 A 2 の発現上昇が認められる。C : PLP ペプチド免疫 10 日後の SJL マウスより分離した所属リンパ節細胞に、NR 4 A 2 特異的 siRNA あるいはコントロール RNA を遺伝子導入した後、PLP ペプチドで再刺激して得られた細胞を、放射線照射したナイーブ SJL マウスに移入して EAE を誘導した。

EAEを発症させる (passive EAE モデル) と、対照 T 細胞に比べて T 細胞の病原性が有意に低下した (図 4).¹⁵⁾ NR4A2 の発現制御あるいは機能制御により MS 病態が制御できる可能性が示された。

RNA 干渉法を用いた核酸医薬の臨床応用には多くの課題があり、現行の治験も局所投与にとどまっているが、今回用いた siRNA の配列はヒト・マウス間で完全に保存されており、両種の T 細胞にも効果があったことから、siRNA の臨床応用につながる技術基盤の底上げを期待したい。

NR4A2 のリガンド結合領域は不活性化されていると予想されるが、実は抗がん剤として用いられている 6-メルカプトプリンには NR4A2 の転写活性増強能が報告されていることなどからも、活性を制御する小分子化合物を探索していく価値は十分にある。興味深いことに、NR4A2 は T 細胞における抗原刺激や種々の生体因子による刺激をのみならず、ストレス負荷や運動に伴う物理刺激などでも誘導される。心的ストレスや過剰な運動とこれに伴う過労は典型的な MS の増悪因子であり、本来無関係な刺激が T 細胞の NR4A2 発現を誘導し、結果的に自己免疫疾患の引き金となる可能性があるのではないだろうか。今後の研究を通じて、このような神経と免疫の関わりが明らかとなれば興味深い。

3 おわりに

私たちは、主に病原性 T 細胞の機能制御を標的とした新規 MS 治療戦略の探索を対象に研究を進めているが、これには 3 つの理由がある。第一に、自己免疫病である MS の根治療法の確立には、主病因である病原性 T 細胞の機能制御を標的とするのが本筋だと考えるからである。あるいは、そのようなアプローチが根治療法への唯一の道ではないかとい

う気さえしている。第二に、免疫学が現在のように急速に発展し、結果として様々な抗体医薬が続々と臨床応用されていく中で、免疫担当細胞そのものを標的とした治療法を臨床応用の狙上へのせたいという強い思いがある。このような観点から、タイサブリや FTY720 にも大きく期待をしている。

そして第三の理由としては、このようなアプローチによって確立される MS の治療法は、恐らく免疫応答の制御の破綻が背景に潜む他の複数の自己免疫疾患に (少なくとも部分的には) 適用できるのではないかと期待するからである。自己免疫疾患の多くは比較的まれな難病であり、個別の疾患を対象とした治療法開発は、人的あるいは資金的な制約から簡単には進まない現状があることから、共通する病因を探りあてることに極めて大きなメリットがある。もちろん個別の疾患には特有の病因があり、あらゆる自己免疫疾患に普遍的に適用できる方法は望めないが、できる限り幅広い適用範囲を持つ画期的な治療法を目指して、研究を進めていきたいと考えている。

文 献

- 1) Aranami T, Yamamura T, *Allergol. Int.*, 57, 115-120 (2008).
- 2) McFarland H. F., Martin R., *Nat. Immunol.*, 8, 913-919 (2007).
- 3) Korn T. *et al.*, *Annu. Rev. Immunol.*, 8, 8 (2009).
- 4) Sakaguchi S. *et al.*, *Cell*, 133, 775-787 (2008).
- 5) Kronenberg M., *Annu. Rev. Immunol.*, 23, 877-900 (2005).
- 6) Chiba A. *et al.*, *Arthritis Rheum.*, 50, 305-313 (2004).
- 7) Miyamoto K. *et al.*, *Nature*, 413, 531-534 (2001).
- 8) Oki S. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 113, 1631-1640 (2004).
- 9) Oki S. *et al.*, *Int. Immunol.*, 17, 1619-1629 (2005).
- 10) Mucida D. *et al.*, *Science*, 317, 256-260 (2007).
- 11) Klemann C. *et al.*, *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, 32, 20-28 (2009).
- 12) Klemann C. *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 174, 2234 (2009).
- 13) Satoh J. *et al.*, *Neurobiol. Dis.*, 18, 537-550 (2005).
- 14) Maxwell M. A., Muscat G. E., *Nucl. Recept. Signal.*, 4, e 002 (2006).
- 15) Doi Y. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105, 8381-8386 (2008).



吉村 元

国立精神・神経医療研究センター神経研究所免疫研究部

大木伸司

国立精神・神経医療研究センター神経研究所免疫研究部室長

はじめに

従来、多発性硬化症や炎症性腸疾患などの自己免疫疾患に関与する自己反応性T細胞集団としては1型ヘルパーT細胞(Th1細胞)の重要性がいわれてきた。しかし、近年IL-17産生性ヘルパーT細胞(Th17細胞)が新たなヘルパーT細胞サブセットとして同定され、Th1細胞よりもTh17細胞のほうがより高い自己免疫疾患惹起性を有することが明らかとなった。ustekinumabはTh1細胞とTh17細胞の分化や増殖に重要な役割を果たすIL-12とIL-23に共通するp40サブユニットに対する中和抗体であり、Th1、Th17細胞が関与する自己免疫疾患に対する効果が期待されている。本稿では、ustekinumabの各種自己免疫疾患に対する有効性について諸外国の臨床試験の結果を紹介するとともに、これらの疾患とIL-12/IL-23とのかわりについて概説する。

IL-12とIL-23

IL-12とIL-23は、ともにToll様受容体刺激などに反応して樹状細胞やマクロファージといった抗原提示細胞から産生されるサイトカインである。IL-12は、抗原刺激時にナイーブT細胞に作用して、IFN- γ 産生性のTh1細胞に分化させる。一方、IL-23はナイーブT細胞から分化したTh17細胞に作用して、これを安定化、維持する機能がある(図1)。IL-12とIL-23はいず

れも2つのサブユニットからなるヘテロダイマーで、共通するp40サブユニットにp35(IL-12)あるいはp19(IL-23)が会合している(図2)。ヒト免疫グロブリントランスジェニックマウスから作られた完全ヒト化IgG1 κ 抗体であるustekinumabは、p40サブユニットに対する中和抗体であることから、Th1細胞のみならずTh17細胞の増殖や機能も抑制すると考えられ、これらのT細胞サブセットが病態に関与する自己免疫疾患に対する有効性が期待される。

クローン病に対するustekinumabの効果

活動性クローン病患者の回腸生検検体においてはIL-23とIL-17A、IL-6の発現が増加しており、便中のIL-17濃度も増加している。また、IL-23受容体(IL-23R)の遺伝子多型がクローン病の疾患感受性と強く関連していることも明らかとなっている。さらに、クローン病患者の腸管に存在する炎症性T細胞はIL-17と同時にIFN- γ も産生しており、Th1細胞とTh17細胞の表現型を共有していることから¹⁾、Th17細胞だけでなくTh1細胞の機能も制御することができるp40サブユニットを治療標的とすることで、より効果的なクローン病の治療効果が期待できる。

これらの基礎研究の結果に基づいて、2000年から2002年にかけて活動性クローン病患者79名に対するATB-874(ヒト抗体ファージディスプレイライブラリー

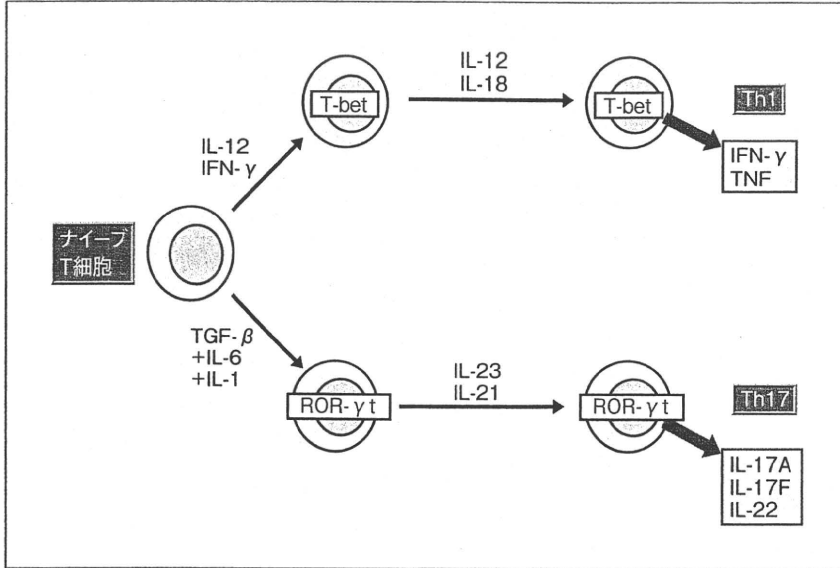


図1 Th1細胞とTh17細胞の分化
黒字はサイトカイン、黄字は各T細胞サブセットに特異的な転写因子。

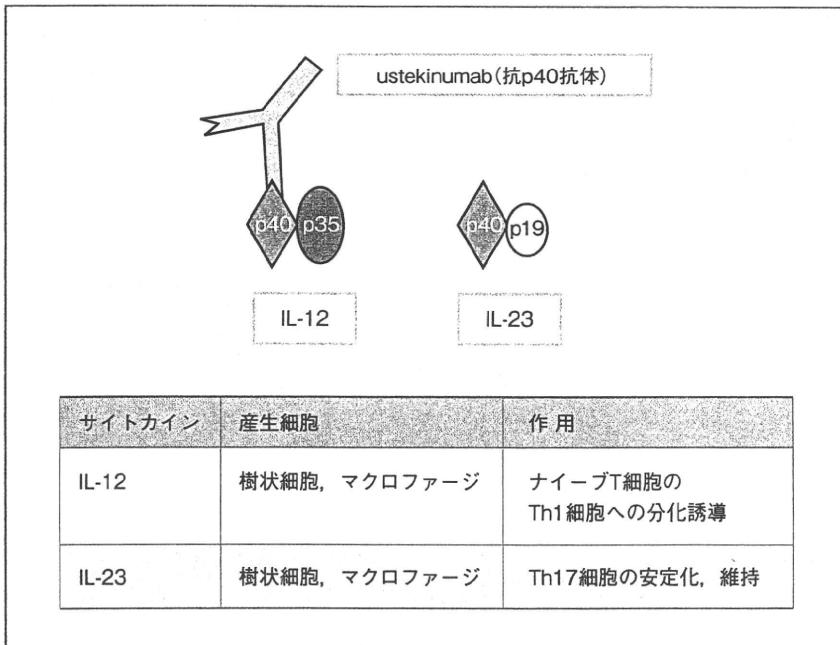


図2 IL-12とIL-23の構造・作用とustekinumab

から分離、最適化された完全ヒト化抗p40(IgG1 λ)抗体、ustekinumabとは異なる)の臨床試験が行われた²⁾。その結果、ATB-874投与群において疾患活動性の有意な低下が認められ、主な副作用としてはATB-874投与群において皮下注射部位の局所反応が高率にみら

れた以外はプラセボ群と差はなかった。また、中等症から重症のクローン病患者に対するustekinumabの臨床試験においても同様に有効性が証明され、さらにこの試験ではTNF阻害薬の無効な患者に対してもustekinumabが有効である可能性が示唆された³⁾。

尋常性乾癬に対するustekinumabの効果

IL-23をマウスに皮内注射すると乾癬様の病変を生じることから、乾癬の病態形成にはIL-23がかかわると考えられた。さらに、乾癬患者の皮膚病巣ではp40とp19の発現が増加しており、IL-12BとIL-23Rの遺伝子多型が乾癬の発症リスクと関連していることが明らかとなっている。

これらを根拠として、2003年から2005年にかけて尋常性乾癬に対するustekinumabの第Ⅱ相臨床試験が行われた⁴⁾。320名の中等症から重症の尋常性乾癬患者を用量別に4群のustekinumab投与群とプラセボ群に無作為に割り付け、32週間のフォローアップを行ったところ、いずれの用量のustekinumab投与群においても、乾癬病巣の範囲や重症度において有意な改善を認めた。なお、ustekinumab投与により重篤な副作用の発生率の上昇は認めなかった。また、ABT-874も第Ⅱ相臨床試験において尋常性乾癬に対する有効性が示されている⁵⁾。さらにこれらの効果は、現在尋常性乾癬に対して使用可能なTNF阻害薬(アダリムマブ、エタネルセプト、インフリキシマブ)や、ヒトLFA-3/IgG1融合蛋白(alefacept)、抗CD11aモノクローナル抗体(efalizumab)と比べても遜色なく有効なものであった。

多発性硬化症に対するustekinumabの効果

多発性硬化症(Multiple Sclerosis; 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; EAE)においては、p35欠損マウスがEAE感受性であるのに対して、p40欠損マウスとp19欠損マウスがEAE耐性であることから⁶⁾、病態の成立にはIL-12よりもむしろIL-23が重要であることが明らかとなっている。さらに、p40に対する抗体がEAEの病態抑制に有効であることも示されている⁷⁾。ヒトにおいてもMSの急性期脱髄巣で

IL-6とIL-17の転写産物が増加しており、免疫組織化学的にp40とp19が検出されており、MSの病態形成にIL-23が関与する可能性が示されている。

以上のような事実に基づいて、2004年から2006年にかけて再発寛解型MSに対するustekinumabの第Ⅱ相臨床試験が行われた⁸⁾。249名のMS患者を用量別に4群のustekinumab投与群とプラセボ群に無作為に割り付け、37週間のフォローアップを行った。しかし、いずれの用量のustekinumab投与群においても、一次エンドポイントであるMRI T1強調画像での新たなガドリニウム造影病変の出現数はプラセボ群と変わらなかった。なお、ustekinumab投与による重篤な副作用はおおむね認めなかった。

動物モデルでは有効であったにもかかわらず、今回の臨床試験でustekinumabの有効性を見出せなかった理由についてはいくつかの考察がなされている^{9,10)}。ひとつは対象患者の問題である。EAEにおいてはIL-23は病態の誘導には必須であるが、病態の維持にはあまり関与しないと考えられており、p40に対する抗体も病初期に投与されて効果を得ている。本臨床試験には罹病期間が長く後遺症の重い患者も含まれており、このためにustekinumabの有効性がみえにくくなった可能性がある。この場合、病初期のMS患者のみを対象とした臨床試験を行えば、有効性が見出せる可能性がある。もうひとつは、EAEとMSの根本的な病態の違いにその理由を求めるものである。すなわち、中枢神経の外部での免疫によって誘導されるEAEとは異なり、MSでは中枢神経内部での免疫反応が主体であるため、MSの病態抑制には投与された中和抗体が十分に中枢神経内に到達する必要がある。しかし、本臨床試験では血液脳関門の破綻を示唆するガドリニウム造影病変を患者の半数未満にしか認めず、抗体が中枢神経内に到達できなかった可能性がある。この場合には、抗体を血液脳関門を越えてMS病巣に効率よく到達させる方法の開発が必要となる。また、Th1細胞とTh17細胞の分化は互いに拮抗する可能性があるため、ustekinumab投与によって本当にTh1細胞とTh17細胞の両者の機能を抑制できたのかにつ



Cutting Edge

いても再検討する必要がある。

まとめ

諸外国の臨床試験の結果から、現在のところ ustekinumab はクローン病と尋常性乾癬に対しては有効であると考えられる。また、基礎研究の結果も合わせると、これらの疾患の病態に IL-12/IL-23 が関与していることはほぼ確実である。一方、MS に対しては ustekinumab の有効性が示されなかったが、本当にすべての MS 患者に対して無効であるのかに関しては、MS の病態への IL-12/IL-23 の関与の有無を含めて、現時点では慎重に判断する必要がある。

いずれにしても、これまでの臨床試験の結果から ustekinumab は安全性の高い薬剤であることがわかっており、将来的には多くの自己免疫疾患患者に対して大きな福音となる可能性のある薬剤である。今後は関節リウマチ(RA)など、IL-12/IL-23 の病態への関与が予想されているほかの自己免疫疾患に対する有効性についても検討されることが望まれる。

References

- 1) Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V et al : Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* **204** : 1849-1861, 2007
- 2) Mannon PJ, Fuss IJ, Mayer L et al : Anti-interleukin-12 antibody for active Crohn's disease. *N Engl J Med* **351** : 2069-2079, 2004
- 3) Sandborn WJ, Feagan BG, Fedorak RN et al : A randomized trial of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients

with moderate-to-severe Crohn's disease. *Gastroenterology* **135** : 1130-1141, 2008

- 4) 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
- 5) Kimball AB, Gordon KB, Langley RG et al : Safety and efficacy of ABT-874, a fully human interleukin 12/23 monoclonal antibody, in the treatment of moderate to severe chronic plaque psoriasis. Results of a randomized, placebo-controlled, phase 2 trial. *Arch Dermatol* **144** : 200-207, 2008
- 6) 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* **421** : 744-748, 2003
- 7) 't Hart BA, Brok HP, Remarque E et al : Suppression of ongoing disease in a nonhuman primate model of multiple sclerosis by a human-anti-human IL-12p40 antibody. *J Immunol* **175** : 4761-4768, 2005
- 8) Segal BM, Constantinescu CS, Raychaudhuri A et al : Repeated subcutaneous injections of IL12/23 p40 neutralising antibody, ustekinumab, in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis : a phase II, double-blind, placebo-controlled, randomized, dose-ranging study. *Lancet Neurol* **7** : 796-804, 2008
- 9) Longbrake EE, Racke MK : Why did IL-12/IL-23 antibody therapy fail in multiple sclerosis? *Expert Rev Neurother* **9** : 319-321, 2009
- 10) Steinman L : Miex results with modulation of T_H-17 cells in human autoimmune diseases. *Nat Immunol* **11** : 41-44, 2010

