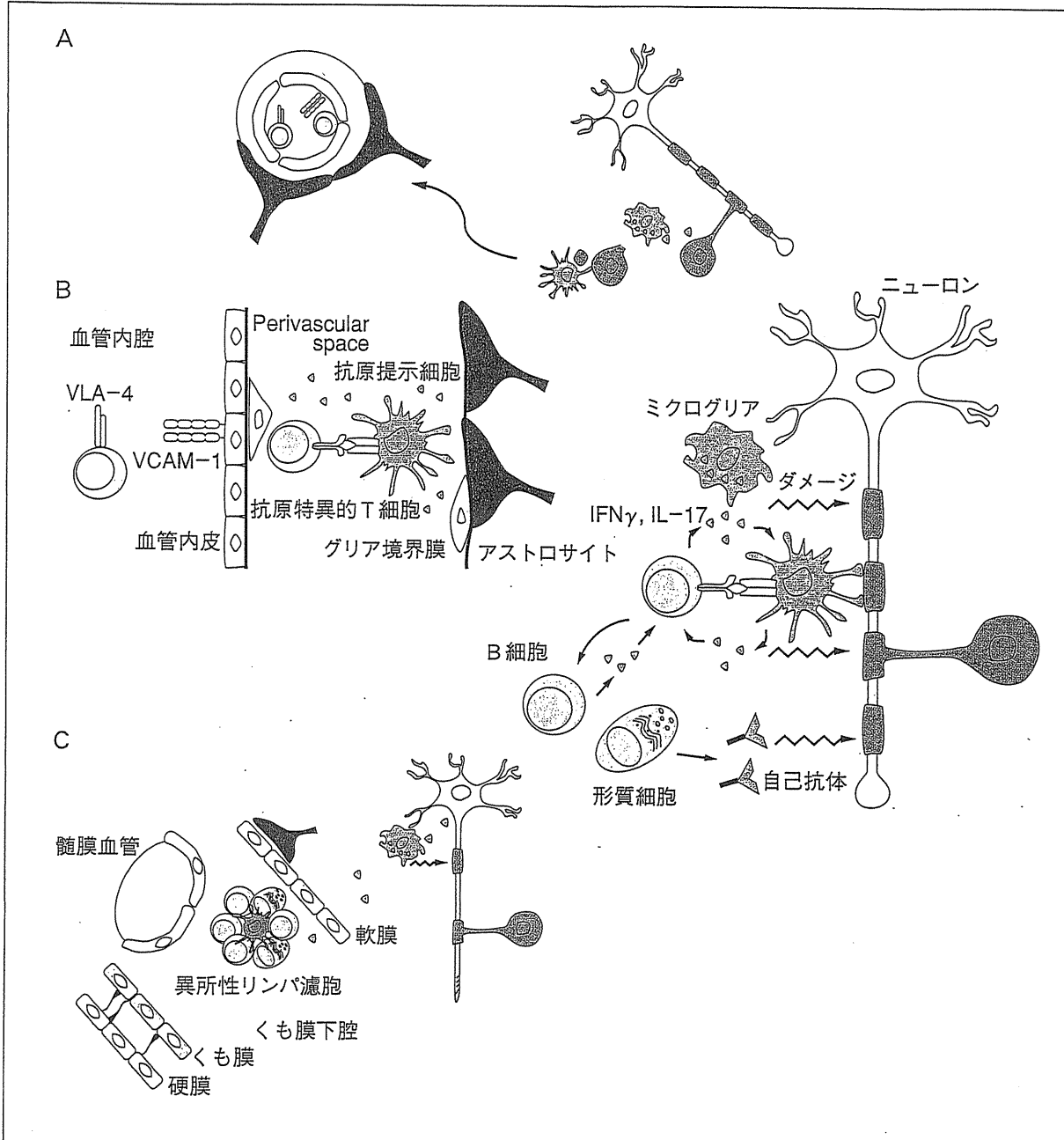


図1 多発性硬化症 (MS) 病態の概念図



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⁷⁾。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 β に限られているが、IFN β 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 β 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 β が有効であるが、Th17 細胞で誘導した EAE では IFN β 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⁸⁾。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 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。

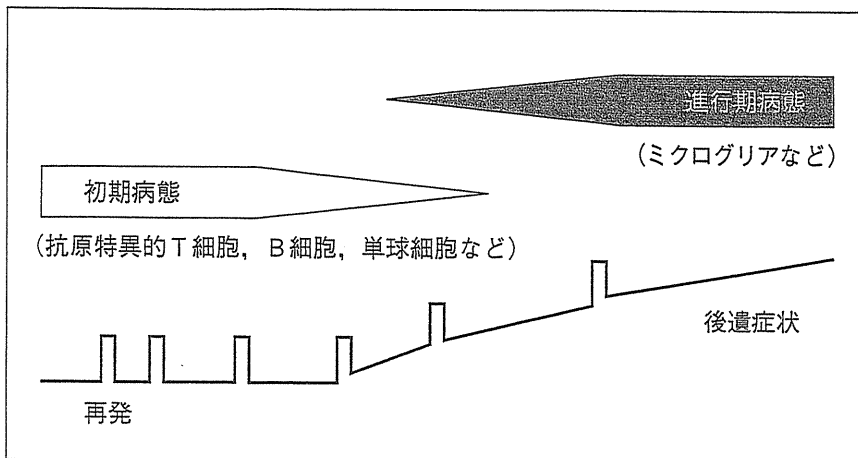
近年になって、従来 MS と診断されていた症例の中から、グリア境界膜を形成するアストロサイトの足突起に高発現するアクアポリン 4 (AQP4) に対する自己抗体が検出されることが分かった。このような症例は視神経脊髄炎 (NMO) の臨床病型をとるものに多く、MS とは区別して NMO spectrum disorder (NMOSD) と診断されるようになった。抗 AQP4 抗体はそれ自体がアストロサイト障害活性を有し、抗 AQP4 抗体陽性の症例

は通常の MS とは異なる⁹⁾。IFN β 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 β 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¹⁰⁾、IFN β 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¹¹⁾。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¹²⁾。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¹³⁾。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¹⁴⁾。

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)¹⁵⁾。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¹⁶⁾。

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¹⁷⁾、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¹⁸⁾¹⁹⁾。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- β -induced Foxp3⁺ T cells and, together with TGF- β , generates IL-9⁺IL-10⁺Foxp3⁻ 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- β in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis. *Nat Med* 16 (4): 406-412, 2010.
- 9) Wingerchuk DM, et al: The spectrum of neuro-myelitis 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)

<Special Article> 免疫性神経疾患の免疫学

能登大介 山村 隆*

要 旨

- 近年, Th17 細胞などの新たなリンパ球サブセットの発見により, 免疫性疾患の病態解明が進んでいる。
- Th17 細胞は IL-17 を産生する CD4 陽性ヘルパー T 細胞のサブセットであり, 多発性硬化症の動物モデル実験的自己免疫性脳脊髄炎において, 病態への関与が証明されている。
- 免疫学的特権部位とされてきた中枢神経系へのリンパ球の侵入機序についても, 近年新たな知見が報告されており, 多発性硬化症に代表される免疫性中枢神経疾患の病態機序の解明, 新規治療法の開発につながる可能性がある。

はじめに◎

免疫性神経疾患は, 病態がいまだ完全には解明されておらず, 画期的な治療法もないため, その多くが難病に指定されている。基礎免疫の領域では Th17 細胞や Treg 細胞など新しいリンパ球サブセットの研究が大きく進展しており, 免疫性神経疾患との関連についても多くの報告がある。また, 中枢神経系は, 従来, 「免疫学的特権部位 (immunologically privileged site)」とされてきたが, そのような部位が, なぜ自己免疫疾患の主座になるのか明確ではなく, また中枢神経内の免疫応答の詳細については不明な点が多かった。しかし, 近年, 中枢神経系へリンパ球が侵入する機序についての新たな知見が次々と報告されている。本稿では, 近年発見された Th17 細胞と代表的免

疫性神経疾患である多発性硬化症 (multiple sclerosis : MS) との関連, 中枢神経系と獲得免疫系の関係について概説し, さらに中枢神経系へのリンパ球侵入機序について, 最近の興味深い報告をもとに解説する。

Th17 細胞と免疫性神経疾患◎

CD4 陽性ヘルパー T 細胞は, 獲得免疫系の中で中心的役割を担い, その正しい理解が重要である。活性化した CD4 陽性 T 細胞は, その分化に際し, 樹状細胞, マクロファージなどの自然免疫系細胞が産生するさまざまなサイトカインの影響を受け, 特徴的なサイトカイン産生パターンを呈する細胞へと分化する。そのサイトカイン産生パターンにより, CD4 陽性ヘルパー T 細胞は, Th1 細胞と Th2 細胞の二つに分かれると考えられてきた。

Th1 細胞は, インターロイキン (IL)-12 の存在

* D. Noto, T. Yamamura (部長) : 国立精神・神経センター免疫研究部 (☎187-8502 東京都小平市小川東町 4-1-1)。

下において分化するサブセットで、インターフェロン(IFN)- γ 、IL-2などを産生し、結核菌などの細胞内感染病原体からの防御に関与している。またTh2細胞は、IL-4によって誘導されるサブセットで、IL-4、IL-5、IL-13などを産生する。抗体産生を誘導するほか、アレルギー反応、寄生虫感染に対する防御に関与しているとされる。Th1細胞とTh2細胞は拮抗的に働き、両者のバランスがさまざまな免疫反応や自己免疫疾患に関与しているという考え方はTh1/Th2パラダイムと呼ばれ、広く受け入れられてきた。

代表的免疫性神経疾患の一つであるMSでは、Th1細胞が主として炎症惹起性リンパ球として働くと考えられてきた。しかし、近年、IL-17を産生する細胞集団であるTh17細胞の存在が新たに同定され、さまざまな疾患における役割が注目されている。Th1細胞の分化に必須なIL-12は分子量の異なる二つのサブユニットから構成される(p35, p40ヘテロダイマー)。一方、IL-12サイトカインファミリーの一つであるIL-23は、IL-12とp40サブユニットを共有し、さらに特異的なp19と複合体(p19, p40ヘテロダイマー)を形成する¹⁾。Th1細胞の重要性から考えて、IL-12を欠損するマウスでは、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 : EAE)は軽症化すると予想された。しかし、p35欠損マウス(IL-12欠損マウス)でEAEはむしろ重症化し、p19欠損マウス(IL-23欠損マウス)ではEAE抵抗性になることが報告され²⁾、EAEにおいてTh1細胞が絶対的に重要であるというドグマは崩れ、IL-23およびIL-23依存性のリンパ球の作用に注目が集まった。その後、IL-23には、CD4陽性T細胞のIL-17産生を増加させる作用があることが明らかになり、それがTh1細胞、Th2細胞とは異なるIL-17産生性のCD4陽性T細胞(Th17細胞)の増加によることが示され、MSおよびEAEにおけるTh17細胞の役割に注目が集まるようになった。

IL-17とTh17細胞●

IL-17は1993年に活性化T細胞の産生する分子として同定されたサイトカインで³⁾、現在までにIL-17AからFの6つのファミリー分子が報告されている。IL-17AはメモリーCD4陽性T細胞から産生されるが、メモリーCD8陽性T細胞や $\gamma\delta$ T細胞からも産生される。IL-17は上皮細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞などに作用し、IL-1 β やTNF- α などの炎症性サイトカインやケモカインあるいはマトリックス・メタロプロテアーゼなどの産生を促す。また、好中球の産生や遊走を促す作用があることも知られている。

Th17細胞の分化には、TGF- β とIL-6の両者が重要であることが明らかになっている。一方、IL-23はTh17細胞の分化自体には関与しないが、その増殖、維持に重要であると考えられている(Fig. 1)。Th17細胞の分化に必須の転写因子として、ROR γ Tが報告されており、さらに、ROR α 、STAT3なども重要な転写因子であると考えられている。

EAE, MSにおけるTh17細胞●

MSの動物モデルEAEにおいては、さまざまな形でTh17細胞との役割が示されている。上述したように、Th17細胞の増殖、維持に重要な働きをもつIL-23のサブユニットであるp19の欠損マウスでは、EAE抵抗性となる。また、IL-17欠損マウスやIL-17の中和抗体を投与したマウスではEAEの症状が軽減されることも示されている。しかし、p19欠損マウスではEAEにほぼ完全に耐性であるのに対し、IL-17欠損マウスや中和抗体投与では、部分的にしか抑制できず、IL-23の作用はIL-17のみでは説明できず、今後の検討が必要である。また、後述するが、2009年にはCCR6陽性Th17細胞が、脈絡叢を介して中枢神経系に進入し、EAE発症の早期に重要な役割を果たしているという報告がなされた。

動物モデルであるEAEと比較して、ヒトの疾

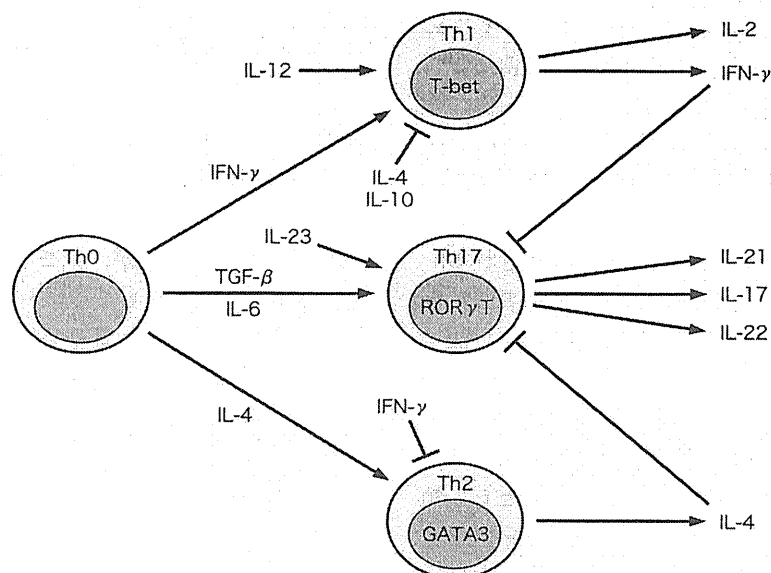


Fig. 1. CD4 陽性 T 細胞の分化

ナイーブ CD4 陽性 T 細胞 (Th0) は、樹状細胞、マクロファージなどの自然免疫系細胞が産生するさまざまなサイトカインの影響を受け、特徴的なサイトカイン産生パターンを呈する細胞集団へと分化する。Th1 細胞は、IL-12 の刺激により分化し、IFN- γ 、IL-2 などを生産し、Th2 細胞は、IL-4 の存在下で分化し、IL-4、IL-5、IL-13 などを生産する。Th17 細胞は、TGF- β と IL-6 の両サイトカインの存在下で分化し、特異的転写因子 ROR γ T を発現する。IL-23 は、Th17 細胞の増殖、維持に重要であると考えられている。

患 MS における Th17 細胞の役割は、まだ未確定な段階にある。しかし、MS 患者の髄液中における IL-17mRNA の増加傾向が示されているほか、IL-17 が MS の病変で発現が高いことも報告されている。また、視神経脊髄型 MS の患者では髄液中の IL-17 が増加しているとの報告がある。

中枢神経系と免疫

中枢神経系は、長い間、免疫系の監視から免れている特殊な領域、免疫学的特権部位 (immunologically privileged site) と考えられてきた。脳実質内の抗原は、末梢の免疫系の監視を逃れるという現象は、1921 年にはじめて示された。Shirai はマウスの脳実質内に移植されたラット肉腫は成長することができるのに対し、皮下、もしくは筋肉内に移植された肉腫は拒絶され、成長することがで

きないことを示した⁴⁾。さらに、1923 年に、宿主の脾臓を腫瘍と一緒に脳実質に移植することで、腫瘍の成長が抑制されることが示された。このことから、脳実質内での腫瘍の生存、成長は、末梢の免疫系から隔離されていることによる結果であると考えられるようになった。その後、同様の結果が、組織の移植、細菌、ウイルスなどでも示された⁵⁾。

中枢神経系が免疫学的特権部位となっている理由としては、以下のようなものがあげられる。① リンパ組織がなく、樹状細胞などの抗原提示細胞が、T 細胞と遭遇する場である所属リンパ節へ移動するルートがないこと、② 血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB) があり、リンパ球や、抗体などの侵入を阻むこと、③ 免疫系から認識されるのに必要である主要組織適合抗原 (major histocom-

patibility complex : MHC) が神経系の細胞では発現されていないこと, などである。しかし, 近年, これらの免疫学的特権部位を保持している機能が, さまざまな要因で失われ, MS に代表される免疫性神経疾患を引き起こすことが明らかになりつつある。

MHC の発現○

中枢神経系の構成細胞である, ニューロン, アストロサイト, オリゴデンドロサイト, ミクログリアは, 通常 MHC を発現していない, もしくはその発現が非常に低く抑えられている。しかし, 活性化 T 細胞から産生される IFN- γ により, ミクログリア, アストロサイトに MHC の発現が誘導されることが知られており, 活性化 T 細胞が存在すると, 神経系の細胞も T 細胞に認識される。また, 血管周囲に存在する perivascular macrophage は MHC を発現しており, T 細胞への抗原提示に関与していると考えられている。

BBB とリンパ球○

脳実質内の毛細血管には BBB と呼ばれる血液と脳実質内の物質移動を制限する機構が存在する。脳実質内の毛細血管では, 内皮細胞間が tight junction で結合され, 物質が移動できないようになっており, リンパ球の移動も制限される。しかし, いったん, 中枢神経系に炎症が惹起されると, その内皮細胞の表面に細胞接着分子やケモカインを発現し, リンパ球の中枢神経系への浸潤が可能となる。EAE を発病したマウスや, TNF- α の静脈内投与を行ったマウスでは, リンパ球が内皮細胞上を転がるように動く, “rolling” といった運動が観察される。炎症の起こった内皮細胞上では, P-selectin, E-selectin, VCAM-1 などの接着分子の発現がみられ, CD8 陽性 T 細胞では, セレクチンリガンドである P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) を介して, また CD4 陽性 T 細胞では, VCAM-1 のリガンドである $\alpha 4 \beta 1$ -インテグリン (VLA-4) を介して, rolling を行うとされている。

そのあいだに内皮細胞上に発現しているケモカインと T 細胞上に発現しているケモカインレセプターとの相互作用により, T 細胞が活性化される。EAE マウスにおいては, 内皮細胞上に CCL19, CCL21 が発現しており, それらのケモカインやそのレセプターである CCR7 をブロックすることで, 炎症が起こった脳血管への T 細胞の接着が減少することが示されている。その後, VLA-4 と VCAM-1, LFA-1 と ICAM-1 といったインテグリンを介したしっかりとした接着 (adhesion) により, T 細胞が血管壁に固定され, 最終的に内皮細胞内をすり抜け (transcellular migration) 脳実質内へ侵入してゆくと考えられている⁶⁾ (Fig. 2)。

脈絡叢, 髄膜とリンパ球○

生理的条件下では, リンパ球の中枢神経系への侵入は厳密にコントロールされているが, くも膜下腔や, Virchow-Robin 腔と呼ばれる血管周囲腔には, 生理的条件下でも T 細胞が存在している。健康成人の髄液中には, 約 15 万個の細胞が含まれており, その約 80% が, CD4 陽性 CD45RO 陽性 CD27 陽性 CXCR3 陽性のセントラルメモリー T 細胞であるとされている。くも膜下腔や血管周囲腔には抗原提示能を有するマクロファージが存在しており, 髄液中のセントラルメモリー T 細胞は, これらの抗原提示細胞とコンタクトし, 中枢神経系の免疫学的監視を行っているものと考えられている。髄液中の T 細胞は, 脈絡叢を介して, くも膜下腔に移行していることが示唆されている。脈絡叢の内皮細胞は, 脳実質内の BBB を構成する内皮細胞と異なり, 有窓性の内皮細胞で構成されている。さらに内皮細胞の外側には基底膜をもつ脈絡叢上皮細胞があり, 上皮細胞同士は tight junction にて結合されている。この脈絡叢を介した T 細胞の髄液中への移行については, いまだ不明な点が多いが, 2009 年の Reboldi らの報告によると, CCR6 を介した脈絡叢からの Th17 細胞の侵入が EAE の発症に必須であるという⁷⁾。ケモカインレセプターである CCR6 は Th17 細胞に

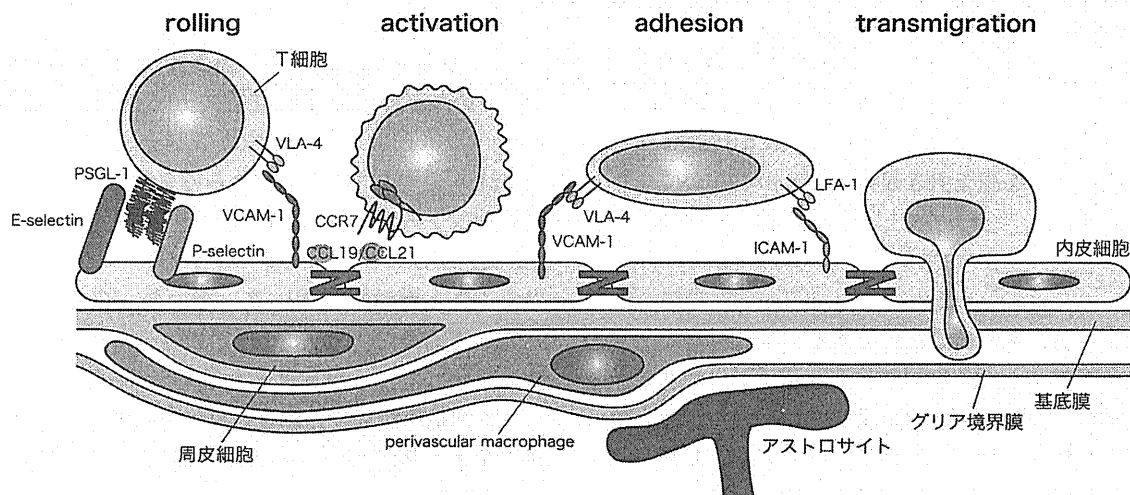


Fig. 2. 炎症血管での T 細胞の浸潤機序

炎症の起こった内皮細胞上では、P-selectin、E-selectin、VCAM-1などの接着分子の発現がみられ、CD8陽性T細胞では、PSGL-1を介して、またCD4陽性T細胞では、VLA-4を介して、rollingを行う。内皮細胞上に発現しているケモカインとT細胞上に発現しているケモカインレセプターとの相互作用により、T細胞が活性化される。その後、VLA-4とVCAM-1、LFA-1とICAM-1などのインテグリンを介したしっかりとした接着(adhesion)により、T細胞が血管壁に固定され、最終的に内皮細胞内をすり抜け(transcellular migration)脳実質内へ侵入していく。

発現していることが知られているが、彼らは、CCR6欠損マウスではEAEの症状が抑制され、さらに、EAE惹起能をもつmyelin oligodendrocyte glycoprotein特異的T細胞を投与する実験により、T細胞でのCCR6の発現がEAEの発症に重要であることを示した。さらに、CCR6を欠損したT細胞は炎症が起こっている血管を介し、中枢神経系へ侵入することができるが、EAEの初期では中枢神経系に侵入することができないことを示した。脈絡叢には、CCR6のリガンドであるCCL20が高発現しており、またヒトの脈絡叢、MS病変でもCCL20の発現がみられることから、CCR6依存性の脈絡叢を介したTh17細胞の髄液中への移行がEAE、MSの発症に重要である可能性があると結論づけている。前述したように、EAEではTh17細胞との関連が強く示唆されており、またMSでも関連を示す所見が得られていることから、Reboldiらの報告は、EAE、MSの発症メカニズムに関わる所見として非常に興味深い。しかし、CCR6については、欠損マウスにお

いて、逆にEAEが悪化するといった報告もされており⁸⁾、今後の慎重な検討が必要と考えられる。

また、昨年リンパ球の中枢神経系への侵入に関する興味深い研究成果が発表された。Bartholomäusらは、ラットに緑色蛍光蛋白質を遺伝子導入したミエリン塩基性蛋白質(MBP)特異的T細胞を投与することで、EAEを誘導し、2光子顕微鏡を用いて、T細胞の生体内での動き、とくに脊髄の髄膜血管でのT細胞の動きについて観察している⁹⁾。T細胞投与1日後、T細胞が髄膜血管に現れたが、そこでT細胞はcrawlingと呼ばれる特異な運動を呈していた。crawlingとは、細胞が血管の表面に沿って、ときには血流に逆行してうろうろと這い回るような運動をさしており、これまで多核球や単球などでそのような運動を呈することが報告されている。彼らは、ほかの部位の血管(末梢神経、筋肉、耳など)についても観察しているが、T細胞は血流に沿って流れていくかrollingを呈するのみで、crawlingが認められたのは髄膜血管のみであった。このT細胞のcrawling

は抗 VLA-4 抗体によって阻害され、抗 LFA-1 抗体単独では効果はなかったが、抗 VLA-4 抗体とともに投与すると効果が増強されており、VLA-4, LFA-1 といったインテグリンがこの運動に関与していることが示唆される。

crawling をしていた T 細胞はやがて血管外へ出てくも膜下腔へと侵入する。当初は血管周囲を運動しているが、やがて、血管を離れ、髄膜内に存在する抗原提示細胞と接触する。日が経つにつれ、血管外へ出る T 細胞は増加していき、やがて Virchow-Robin 腔を通過して、中枢神経実質内へと侵入していく。中枢神経内への浸潤が始まるころの T 細胞では、初期の T 細胞と比較して、IFN- γ , IL-17 といった炎症性サイトカインやケモカイン、ケモカインレセプターなどの発現が亢進しており、抗原提示細胞と接触することで活性化されたものと考えられる。さらに興味深いことに、われわれは、ovalbumin (OVA) 特異的 T 細胞を投与し検討を行ったところ、OVA 特異的 T 細胞も髄膜血管特異的に crawling を行っており、さらに血管外への遊走も認められたとしている。しかし、中枢神経実質内への OVA 特異的 T 細胞の浸潤は起こらず、OVA を投与した抗原提示細胞を髄腔内投与することで、OVA 特異的 T 細胞の中枢神経実質内への浸潤が誘導されたとしている。このことは、髄膜血管での T 細胞の crawling と血管外への遊走が抗原特異性にかかわらず起こっていることを示しており、このようなエフェクター T 細胞の髄膜血管から髄腔内への遊走と抗原提示細胞とのコンタクトが、中枢神経系の免疫学的監視に関与していることを示唆する所見であると思われる。

おわりに ●

これまで、自己免疫疾患の機序については、Th1/Th2 パラダイムによって説明されてきたが、

Th17 細胞の発見により、大きな変化がもたらされた。今後、動物モデルだけではなく MS をはじめとするヒトの免疫性神経疾患においても、その免疫学的機序と Th17 細胞との関連の解明が重要となってくると考えられる。また、従来免疫学的特権部位と考えられ、獲得免疫系の関与が少ないと考えられてきた、中枢神経系においても、炎症の存在下のみならず、生理的条件下でも T 細胞が移行し、免疫学的監視を行っていることを示唆する所見が集積してきており、今後、中枢神経系の自己免疫疾患の発症機序についても、病態の解明が進歩し、新たな治療法の開発につながることを期待される。

文 献 ●

- 1) Oppmann B et al : Nobel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as a distinct from IL-12. *Immunity* 13 : 715, 2000
- 2) Cua DJ et al : Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature* 421 : 744, 2003
- 3) Rouvier E et al : CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol* 155 : 5483, 1993
- 4) Shirai Y : On the transplantation of the rat sarcoma in adult heterogenous animals. *Jap Med World* 1 : 14, 1921
- 5) Galea I et al : What is immune privilege (not)? *Trends Immunol* 28 : 12, 2007
- 6) Engelhardt B, Rnasohoff RM : The ins and outs of T-lymphocyte trafficking to the CNS : anatomical sites and molecular mechanisms. *Trends Immunol* 26 : 485, 2005
- 7) Reboldi A 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, 2009
- 8) Elhofy A et al : Mice deficient for CCR6 fail to control chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 213 : 91, 2009
- 9) Bartholomäus I et al : Effector T cell interactions with meningeal vascular structures in nascent autoimmune CNS lesions. *Nature* 462 : 94, 2009

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 α 鎖を発現し、限られたV β 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- γ 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 α -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 α 鎖に可変性のないinvariant鎖(マウスではV α 14J α 18、ヒトではV α 24J α 18)を発現するiNKT(invariant NKT)細胞の解析が最も進んでいる¹⁾。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²⁾。MR1(major histocompatibility molecule related 1)拘束性で、invariant鎖(マウスではV1914J α 33、ヒトではV α 7.2J α 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³⁾。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

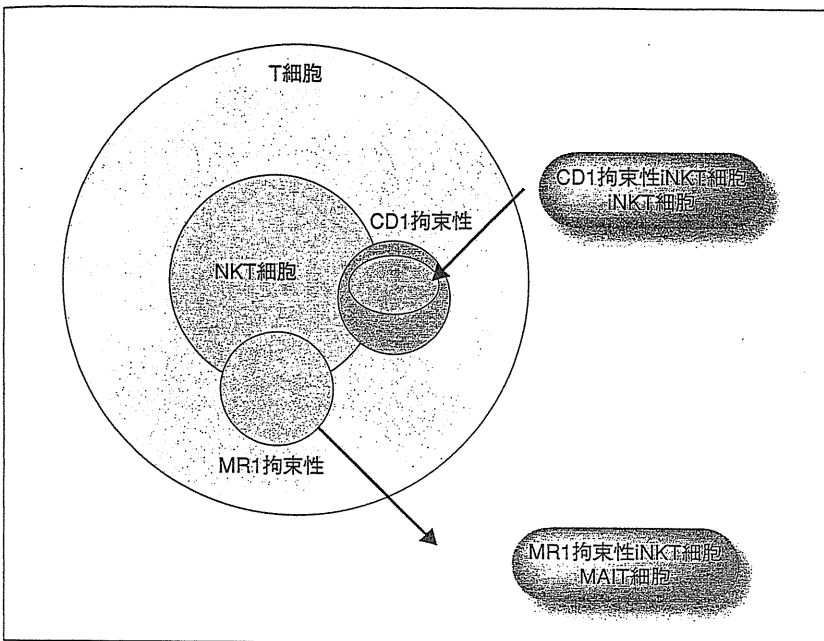


図1 iNKT細胞

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 α 14J α 18、ヒトではV α 24J α 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 α 14J α 18(マウス)もしくはV α 24J α 18(ヒト)を発現していない細胞も存在する。V α 14i以外でも、invariant鎖(ヒトではV α 7.2 α 33、マウスではV α 19J α 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 α 鎖を発現し、限られたV β 遺伝子(マウスではV β 8.2、V β 7、V β 2、ヒトではV β 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¹⁾(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、最近イングロボシド(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。

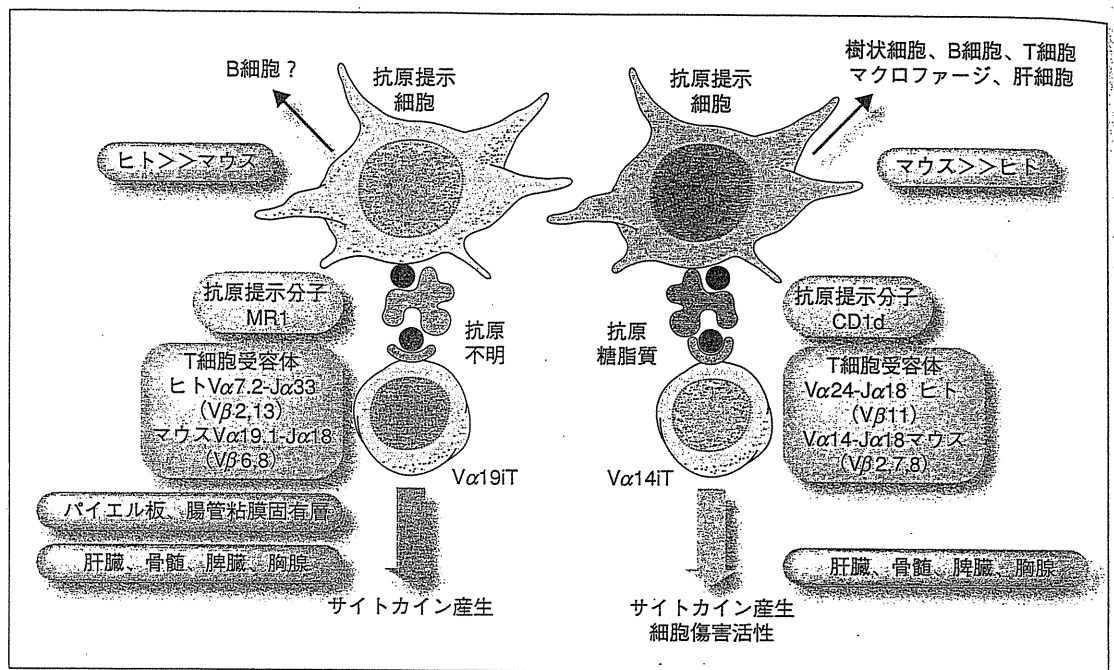


図2 iNKT細胞とMAIT細胞の比較

iNKT細胞は、ヒトではVa24Ja18、マウスではVa14Ja18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Va19Ja18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療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

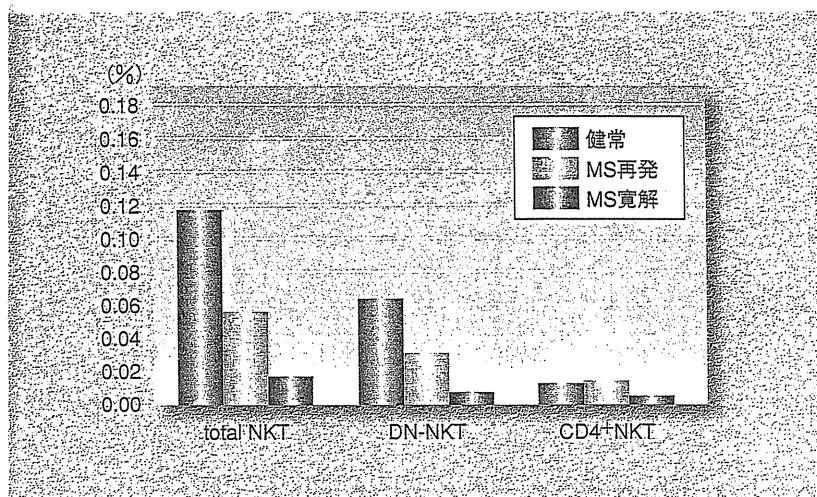


図3 多発性硬化症(MS)患者末梢血におけるiNKT細胞の頻度

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- γ 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⁺CD25⁺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⁻CD8⁻(DN)と、CD4⁺の細胞があるが、ヒトではDNがマウスではCD4⁺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- γ 、TNF- α 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⁺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- γ ともに産生の低下がみられた

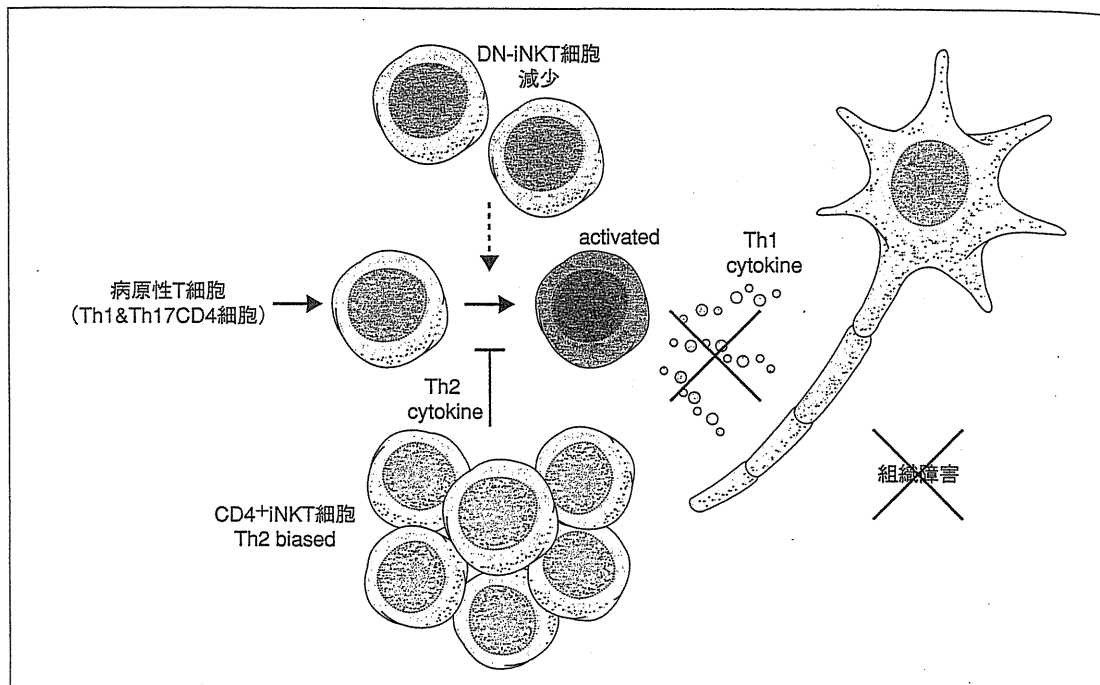


図4 多発性硬化症におけるNKT細胞の役割に関する仮説

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⁺iNKT細胞は比較的保たれている。このCD4⁺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⁺iNKT細胞では寛解期にむしろIL-4の産生亢進がみられた⁴⁾。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- γ 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⁺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⁵⁾。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 α -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^{6,7)}。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 α -GCの

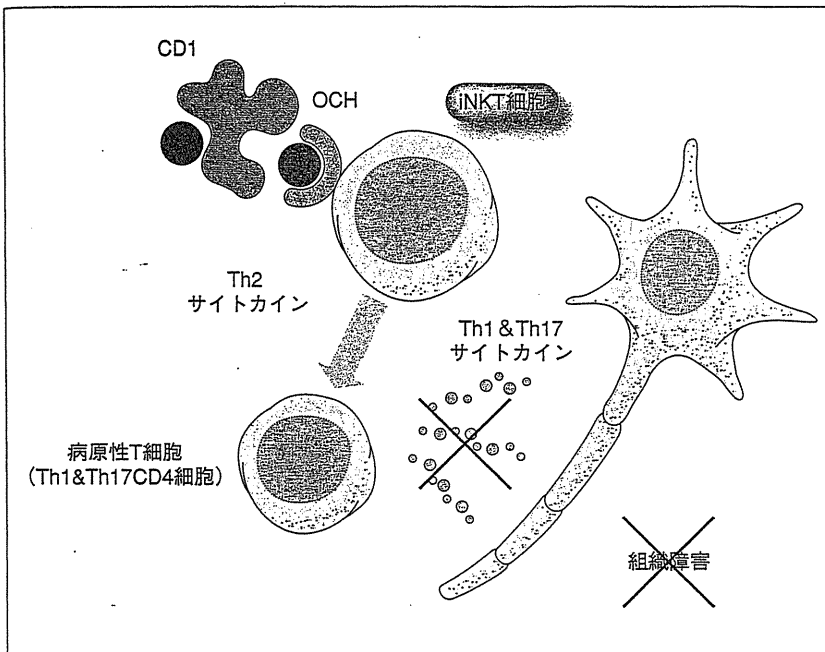


図5 糖脂質抗原投与による自己免疫抑制

OCHは、 α -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、 α -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、 α -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⁶⁾。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、 α -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 α 7.2i T細胞は、ヒトのDNT細胞を解析するなかで、V α 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⁸⁾。その後、LantzらのよりマウスホモログであるV α 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³⁾。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 α 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、腸内細菌由来の外來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 α 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⁹⁾、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¹⁰⁾。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 α 19i TCRをトランスジェニックしてV α 19i T細胞を増加させたマウスと、V α 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 α 19i TCRトランスジェニックマウス(V α 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 α 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 α 14i T細胞が優位であるため、V α 19i T細胞の解析を容易にするために、V α 14i T細胞が存在しないCD1d $^{-/-}$ マウスにV α 19i TCRをトランスジェニックしたマウス(V α 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 α 19i T細胞がコントロールのCD1d $^{-/-}$ マウスに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 α 19i TCRTg/CD1d $^{-/-}$ マウスからNKT細胞(V α 14i T細胞が存在しないので、V α 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 α 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 α 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 α 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- γ 、TNF- α 、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 α 19i TCR Tg/CD1d $^{-/-}$ マウスのNKT細胞(V α 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)。

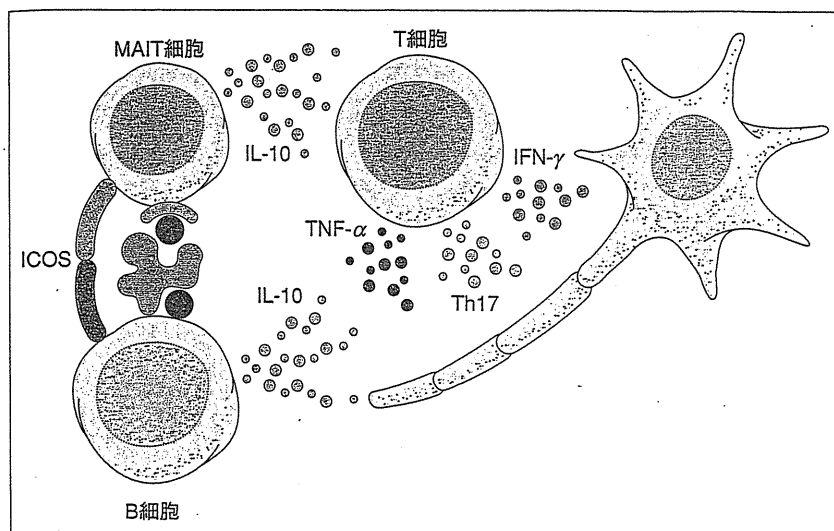


図6 MAIT細胞によるEAEの抑制機序

$V\alpha 19i$ T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⁺ 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 $V\beta$ 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 $V\alpha 7.2-J\alpha 33$ 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 $V\alpha 19i$ T cells regulate autoimmune inflammation. *Nat Immunol* 2006; 7: 987-94.

Ghrelin: Friend or Foe for Neuroinflammation

SACHIKO MIYAKE AND TAKASHI YAMAMURA

Abstract: Ghrelin is a recently identified gastric hormone that displays strong growth hormone (GH) releasing activity mediated by the GH secretagogue receptor (GHS-R). While this unique endogenous peptide participates in the regulation of energy homeostasis, increases food intake, and decreases energy expenditure, its ability to modulate immune regulation is another important feature. Here we discuss the effect of ghrelin on the immune system. Ghrelin was initially reported as an immune enhancing factor. More recently, however, the immunosuppressive effects of ghrelin have been found in several animal models including bowel disease, arthritis, and sepsis and endotoxemia. We recently demonstrated that exogenous administration of ghrelin suppressed experimental autoimmune encephalomyelitis, an animal model of multiple sclerosis in association with the reduction of pro-inflammatory cytokines in microglia. These results shed light on the new role of ghrelin in the regulation of disorders that pro-inflammatory cytokines contribute to the pathogenesis such as neuroinflammatory and mental diseases.

Malnourished people are more susceptible to

Sachiko Miyake, M.D., Ph.D., and Takashi Yamamura, M.D., Ph.D., is at the Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, NCNP, Tokyo 187-8502, Japan.

Corresponding author: Dr. Sachiko Miyake (Sachiko Miyake: miyake@ncnp.go.jp).

pathogens, yet it is said, though mostly anecdotal, that people with autoimmune diseases such as multiple sclerosis or rheumatoid arthritis may claim that their symptoms can be reduced by fasting. Although little was known about the mechanistic link between starvation and immunity, recent studies have shed light on the immunomodulatory potency of a range of feeding regulatory hormones such as ghrelin, leptin, and neuropeptide Y (NPY). For example, serum leptin is decreased after acute starvation in parallel with immunosuppression or Th2 bias, whereas exogenous leptin would correct the altered Th1/Th2 balance towards Th1 (Lord et al., 1998; Sanna et al., 2003). In contrast, endogenous NPY is increased after starvation. Exogenous NPY has been reported to shift the Th1/Th2 balance towards Th2 and can ameliorate the severity of EAE (Bedoui et al., 2003). More recent study using NPY1 receptor-deficient mice has shown that NPY has the bimodal role in altering immune responses (Wheway et al., 2005). Namely, a new role of NPY to promote APC activation has emerged in addition to its role for downregulating Th1-responses. Interestingly, both peptide hormones are linked to ghrelin, a focus of this short review, in an endocrine feedback system. Ghrelin level increased after starvation, and can potently stimulate the release of NPY in the central nervous system (CNS) (Cowley et al., 2003). Moreover, ghrelin shows antagonistic effects against leptin (Kalra et al., 2005).

The effect of ghrelin on immune system

Ghrelin is a gastric hormone first identified in the rat stomach in 1999 as a mediator of growth hormone (GH) release (Kojima et al., 1999). The bio-

logical effect of ghrelin is mediated by a G protein-coupled receptor called GH secretagogue receptor (GHS-R). Although ghrelin is predominantly secreted from mucosal endocrine cells of stomach, ghrelin and GHS-R are widely distributed in various organs. Furthermore, it is measurable in the systemic circulation, indicating its hormonal nature. In consistent with its broad expression, ghrelin does not only stimulate GH release, but also increases food intake, regulates energy homeostasis and decreases energy expenditure by lowering the catabolism of fat (Nakazato et al., 2001; Wu et al., 2004). Because of its orexigenic and adipogenic character, ghrelin may be potentially useful for the treatment of anorexia and cachexia (Nagaya et al., 2005). Ghrelin and the GHS-R were detected in immune cells and lymphoid tissues. Initially, ghrelin was reported as an immune enhancing factor. Koo et al. reported that ghrelin induced increase of levels of peripheral blood lymphocytes and thymic cellularity and differentiation (Koo et al., 2001). In addition, they showed ghrelin treatment reduced tumor initiation and subsequent metastases by the increase of the number of cytotoxic lymphocytes. More recently, however, the immunosuppressive effects of ghrelin have been reported. Anti-inflammatory functions of ghrelin were first reported against T cells and macrophages in vitro (Dixit et al., 2004). And then, the immunosuppressive activity of ghrelin in vivo was shown in several animal models including bowel disease (Gonzalez-Rey et al., 2006), arthritis (Chorny et al., 2008; Granado et al., 2005) and sepsis and endotoxemia (Chorny et al., 2008; Li et al., 2004; Wu et al., 2007). In these reports, the anti-inflammatory effect of ghrelin is focused on the suppression of pro-inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6, and TNF- α . Li et al. demonstrated that ghrelin attenuated TNF- α -induced nuclear translocation of NF- κ B, indicating that blockade for activation of the transcription factor NF- κ B could be a potential mechanism whereby ghrelin modulates inflammatory responses (Li et al., 2004).

Ghrelin suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis

In consistent with these observations, we recently demonstrated that exogenous administration of ghrelin suppressed experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), an animal model of mul-

iple sclerosis (Theil et al., 2009). Since ghrelin is the most potent NPY releasing hormone and NPY suppresses EAE by a Th2 bias, we examined whether ghrelin affects the Th1/Th2 balance in ways that are similar to NPY. It was also interesting to clarify whether its potential mechanism of EAE suppression is primarily mediated through immune cells or secondarily through NPY release. Both the proliferative response and the cytokine production including IFN- γ , IL-17, and IL-4 by encephalitogenic antigen-primed T cells did not significantly alter between ghrelin- and sham-treated mice. Based upon these observations, we concluded that the suppression of EAE mediated by ghrelin is independent on the NPY effect. Furthermore, we revealed that transfer of T cells from ghrelin-treated mice to normal mice produced a similar disease compared to transfer of T cells from control mice, suggesting that other cells rather than T cells are main targets of ghrelin in EAE. Interestingly, the expression of pro-inflammatory cytokines was reduced in spinal cords, particularly in microglia, of ghrelin-treated mice. In fact, LPS-stimulated production of pro-inflammatory cytokines by microglia isolated from naive mice was reduced when cultured in the presence of ghrelin in vitro, indicating the direct effect of ghrelin on microglia. Although monocytes have been reported to be mainly affected by ghrelin treatment in animal models of sepsis or arthritis, microglia seem to be an important target in EAE. Microglia are derived from hematopoietic cells in central nervous system. Microglia is a double-edged sword which has both pro-inflammatory and anti-inflammatory functions (Block et al., 2007). Microglia play an important role in keeping homeostasis of CNS as a scavenger cells in normal conditions. However, microglia are important sources of inflammatory cytokines in pathogenic conditions such as inflammation. More recently, the involvement of pro-inflammatory cytokines has gained attention not only in inflammation but also in psychiatric disorders such as depression and neurodegenerative diseases including Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and Alzheimer's disease. Therefore, to understand the regulatory mechanisms of pro-inflammatory cytokine production in microglia is critical to control a variety of neurological and mental diseases.

Future directions