

感染と免疫

城内 直・石井 健

ポイント

- ◎病原体感染を認識する多様な受容体解明は、感染防御機構の解明や有効なワクチン開発につながる。
- ◎病原体の認識受容体の機能異常と感染症病態の相関を解析することにより、感染症病態の迅速な予測につながる。
- ◎現状問題とされる感染症に対する免疫応答とワクチン開発の問題点を明確にし、有効なワクチン開発につなげる。

われわれの体は、皮膚、口腔、鼻腔、生殖器を介して外環境に存在する異物と接している。非自己の異物には、細菌やウイルスなどの病原体も含まれ、病原体はこれらの侵入門戸を介して細胞に感染し、疾患を引き起こす。また、擦り傷や針刺しによる血液を介した病原体の侵入も起こる。つまり、病原体は体の至るところから侵入するため、われわれの体はそれらを排除する機構を有している。一連の病原体排除機構を概して免疫と呼ぶが、単に免疫と称しても、病原体侵入後に機能する時期とその役割によって、その呼称は異なる。大別すると、病原体侵入を感知し、感染成立前、または感染後初期に重要な機能を果たす自然免疫と、感染成立後に感染細胞と増殖した病原体の排除、そしてその病原体への免疫記憶を司る獲得免疫である。ワクチン接種は、この自然免疫と獲得免疫を誘導し、免疫記憶を寄与する感染予防法である。獲得免疫の誘導には自然免疫の誘導が必要不可欠

であるため、自然感染、そしてワクチンにおける自然免疫の役割は大きい。

本稿では、自然免疫にかかわる病原体の認識受容体と、現状、問題となっている感染症やワクチンにおける自然免疫応答に関して概説したい。

自然免疫

自然免疫は、感染早期に炎症反応を誘導し、炎症細胞を感染局所に遊走させ、微生物の貪食、消化、殺菌を行う一連の感染後早期感染防御機構である。病原体の認識と炎症応答を誘導する担当細胞として、好中球、マクロファージ、樹状細胞、そして粘膜面を構成している上皮細胞が挙げられる。自然免疫担当細胞が有する病原体の認識受容体は、病原体が有する構成成分の種類によって異なり、多様性に富む。これは、膨大な種類の病原体の認識に重要であり、認識受容体の機能障害は、感染への高い感受性と病

態の悪化に関与すると報告されている。ここでは、認識受容体を分類し、認識分子と機能について概説したい。

Toll 様受容体 (Toll-like receptors : TLRs)

2011 年の Hoffman, Beutler らのノーベル賞受賞で周知の通り、自然免疫を代表する認識受容体である。病原体の表面に発現する分子や、病原体のゲノム DNA や RNA を認識するグループに大別される。TLR 分子によって認識される細菌表面の代表的な発現分子として、リポ多糖 (LPS) やペプチドグリカンが挙げられる。LPS は TLR4 によって認識され、ペプチドグリカンは TLR2 によって認識される。

病原体のゲノム RNA は、TLR3, TLR7, TLR8 によって認識され、ゲノム DNA は TLR9 によって認識される。ゲノム RNA と DNA の認識機構は、病原体ゲノムに含まれる特定の配列、または構造に依存する。例えば、TLR9 は非メチル化 CpG モチーフを認識することが明らかとなっており、TLR3 は 2 本鎖 RNA を、TLR7 と TLR8 は 1 本鎖 RNA を認識すると報告されている。

RIG-I 様受容体 (RIG-I-like receptors : RLRs)

ウイルスは、宿主細胞の表面に発現する分子に結合し、細胞内へ侵入した後、細胞内で複製を開始する。その際、複製中のウイルスゲノムや 2 本鎖 RNA といった中間生成物を感知する細胞内受容体が存在する。RIG-I, MDA5 といった分子がそれにあたり、RLRs ファミリーとして総称される。

MDA5 の機能障害と 1 型糖尿病の関連が報告されている (表 1)。1 型糖尿病は、病原体感

染や自己免疫疾患に起因する糖尿病である。MDA5 の機能障害は、1 型糖尿病の発症リスクを低下させるとの報告があることから、ウイルス感染による膵島炎は、MDA5 を介した炎症応答誘導に起因する可能性が示唆される¹⁾。

NOD 様受容体 (NOD-like receptors : NLRs)

TLRs, RLRs に加えて、NLRs と呼ばれる認識受容体も存在する。病原体の構成成分を認識し、炎症性サイトカインを産生する機能は、TLRs または RLRs と同様である。しかしながら、炎症性サイトカイン産生機構、特にインターロイキン (IL)-1 や IL-18 の産生に関して、NLRs は TLRs や RLRs と異なる特徴を有する。NLRs は、インフラマソームと呼ばれるカスパーゼ 1 を活性化する複合体を形成し、IL-1 や IL-18 の産生を誘導する。

また、認識する病原体分子も多様性に富んでおり、NLRP3 と呼ばれる NLRs 分子は、細菌の細胞壁成分、病原体のゲノム DNA、ゲノム RNA だけではなく、アスベストやシリカといった炎症誘発化合物までも認識する。しかしながら、現在のところ、NLRP3 がこれら炎症誘発因子の何を認識しているのかは、明らかとなっていない。

培養細胞やマウスを用いた実験から、NLRP3 はさまざまな病原体の構成成分を認識すると報告されており、細菌感染からウイルス感染に至るまで、多くの病原体感染の防御にかかわっているとされる。しかしながら、ヒトにおける NLRP3 と病原体感染の相互関係は、いまだ明らかとなっていない。

一方で、NLRP3 の機能異常が自己炎症性症候群と関連することが報告されている。NLRP3 は別名 cryopyrin と呼ばれるため、NLRP3 の機能異常に起因する自己炎症性症候

表 1 認識受容体の機能異常に関連する変異と感染症病態の相関

認識受容体	変異	機能	関連する感染症
TLR2	R753Q	減弱	結核発症率増加, 小児の再発性感染症増加
	P631H	減弱	男性におけるサルモネラ誘発性関節炎悪化
TLR3	P554S	減弱	Heterozygous mutation により単純ヘルペスウイルス性脳炎
TLR4	T399I	減弱	移植後のアスペルギルス症悪化
	N299G	減弱	マラリア原虫感染の病態悪化, 慢性歯周病炎
TLR9	1486C/T	減弱	マラリア原虫感染の病態悪化
MDA5	I923V, ほか	過剰	ウイルス感染による膵島炎, 1 型糖尿病に耐性

群を, cryopyrin 関連周期熱症候群(cryopyrin-associated periodic syndrome : CAPS)と総称する。

C-type lectin 様受容体(C-type lectin-like receptors : CLRs), AIM2 様受容体(AIM2-like receptors : ALRs),細胞内 DNA センサー

CLRs は病原体が有する糖鎖(炭水化物)を認識する受容体ファミリーである。特に真菌に対する自然免疫誘導を担っており、代表的な認識分子として β -グルカンや α -マンノースが挙げられる。

一方, ALRs や細胞内 DNA センサーは, 病原体由来の DNA を認識する細胞内受容体である。これらの認識受容体も, さまざまな感染症との関連が報告されている。

感染免疫とワクチン免疫における自然免疫応答

病原体の認識受容体を介した自然免疫誘導の重要性は, 認識受容体の機能異常と感染症の病態悪化の報告からも示唆されている(表 1)。例えば, TLR2 の機能異常によって, 男性におけるサルモネラ誘発性関節炎の悪化が報告されており, TLR4 の機能異常に関しては, 移植後の

アスペルギルス症悪化, 慢性歯周病炎などが報告されている。つまり, TLR 分子を介した自然免疫活性化は, 感染症の排除と密に関与していることが示唆される。また, ワクチン接種後の感染防御においても, 自然免疫活性化は必要不可欠である。ここからは, 現状, 問題となっている感染症とワクチンにおける, 認識受容体を介した自然免疫応答について概説する。

インフルエンザウイルス

インフルエンザウイルス感染症は, 毎年多くの患者が報告され, 晩秋から冬にかけてメディアを賑わす代表的な呼吸器感染症である。インフルエンザウイルスはゲノムとして 1 重鎖 RNA を有しており, TLR7 や RIG-I を介して I 型インターフェロン産生のような炎症応答が誘導される。炎症応答はウイルスの複製や感染細胞の排除に重要であるが, 過剰な炎症応答は, 稀にインフルエンザ脳症と呼ばれる後遺症を引き起こす。インフルエンザウイルス感染後に認められるこの高サイトカイン血症が, 宿主の自然免疫受容体の機能異常に依るものであるのかどうかは, いまだ明らかとなっていない。

インフルエンザワクチンの免疫原性においても, TLR7 は重要な役割を担っている。現在のワクチンは, インフルエンザウイルスのヘムアグルニチン(HA)抗原を主要ワクチン抗原とし

て用いている。HA 抗原は宿主受容体へ結合し、細胞内へ侵入するのに必須なウイルス抗原であるため、中和抗体の標的として注目されている。しかしながら、マウスを用いた検討結果から、インフルエンザワクチンの免疫原性に加えて HA 抗原のみではなく TLR7 受容体も重要であることが認められた。つまり、インフルエンザワクチンに免疫を増強する RNA が含まれていることが明らかとなり、認識受容体を介した自然免疫応答が、インフルエンザワクチンの免疫原性においても重要であることが示唆された²⁾。

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)

全世界中で蔓延するレトロウイルスであり、一本鎖 RNA をゲノムとして有する。HIV は細胞内に侵入後、逆転写の過程を経て、HIV 由来の二本鎖 DNA を合成する。宿主は 2 段階の認識機構を有しており、ゲノム RNA は TLR7 や TLR8 によって、そしてウイルス由来の DNA は、細胞内 DNA センサーを介して認識される。しかしながら、興味深いことに、TREX1 と呼ばれる宿主の細胞内 DNA 分解酵素は、細胞内 DNA センサーに感知される前にウイルス由来 DNA を分解するため、自然免疫誘導の障害となっている。TREX1 のような細胞内 DNA 分解酵素は核酸の代謝に必要不可欠であるため、HIV は宿主の代謝機構をうまく利用して、自然免疫活性化を抑制していると考えられる。

HIV 感染は、後天性免疫不全症候群(AIDS)と呼ばれる免疫不全を引き起こす世界三大感染症の一つである。発展途上国では、高額な多剤併用療法(HARRT)を受けることができず、AIDS 発症による死亡が後を絶たない。そのため、一刻も早い HIV ワクチンの開発が望まれているが、いまだ上市品がない。昨今、HIV の Gag 蛋白質には変異が挿入されにくいこと、

細胞障害性 T 細胞の誘導抗原として最適であるとの知見から、ウイルスベクターを用いたワクチン開発や、細胞障害性 T 細胞を強く誘導するアジュバント添加ワクチンの開発も進められている。

単純ヘルペスウイルス(HSV)

HSV は 2 本鎖 DNA をゲノムとして有する。そのため宿主細胞は、TLR9 や細胞内 DNA センサーを介してヘルペスウイルスのゲノム DNA を認識し、自然免疫を活性化する。また、HSV 複製の中間産物として生成される 2 本鎖 RNA も、TLR3 または MDA5 を介した認識機構に捕捉される。さらに、CLRs はウイルス表面の糖蛋白質を認識し、炎症応答を誘導する。しかしながら、HSV は神経細胞に潜伏感染するため、これらの認識受容体を回避したウイルスの感染は、排除が困難である。

HSV は、I 型と II 型が存在する。潜伏感染成立後、免疫力が低下した状態で再活性化し、局所または全身性に症状を示す回帰発症を起こす。宿主の免疫系は、潜伏感染中のウイルスを認識できず、HSV は終生にわたり宿主と共存する。ワクチンの開発が強く望まれているが、いまだ効果あるワクチンの上市品はない。近年、II 型 HSV の抗原を用いたアジュバント添加ワクチンについて臨床試験の結果が示されたが、I 型 HSV の感染防御に効果は示したものの、ワクチン抗原と同型の II 型 HSV に関しては効果が低いとの結果が示されている。

結核菌

結核菌はマクロファージに感染する細胞内寄生細菌である。結核菌を認識する受容体として TLRs, NLRs, CLRs が報告されている。TLRs のなかでも TLR2, TLR4, TLR9 の関

与が報告されているが、いまだ議論中である。しかしながら、ヒトのゲノム配列解析から、TLR2の機能異常によって、結核菌感染による結核発症率が増加するとの報告もあり、少なくともTLR2は結核菌の認識と自然免疫誘導に関与していると考えられる(表1)³⁾。

結核菌は、HIVやマラリア原虫感染ならびに称される世界三大感染症の一つである。潜伏感染し、免疫力が低下した際に二次結核を発症する。現在用いられているワクチン(bacillus Calmette Guérin : BCG)は、成人結核、そして多剤耐性結核には効果が低く、新世代のワクチンの開発が望まれている。

マラリア原虫

マラリア原虫と宿主自然免疫の関係は、ヒトのゲノム解析からいくつかの受容体の機能異常、発現異常による病態悪化であることが示唆されている。例えば、TLR9プロモーター領域の変異とマラリアの病態悪化の関連が報告されている⁴⁾。また、TLR4の機能異常とマラリアの病態悪化の報告例もある(表1)。つまり、原虫に対する感染防御においてもTLRs認識受容体が重要であると示唆される。

マラリア原虫感染は世界三大感染症の一つであり、ハマダラカと呼ばれる種類の蚊を媒介としてヒトに感染する。マラリアに対する免疫がないヒトにおいては、体内へ侵入してから1カ月以内に40℃程度の高熱を示し、赤血球破壊だけでなく、腎臓や脳まで侵される。マラリア原虫ワクチンの開発は長年にわたり行われているが、上市品はいまだない。ワクチン開発における一番の問題点は、マラリア原虫のどの抗原をワクチン抗原として用いるべきか、いまだ明確でない点である。有効なワクチン抗原の選定が、有効なワクチン開発の一步となる。

デング熱ウイルス

デング熱ウイルスは、1本鎖RNAゲノムを有する。そのため、RLRsファミリーやTLR3は、ウイルスゲノムRNAやウイルス複製中に生成される2本鎖RNAを認識し、自然免疫を活性化する。このRLRsやTLR3を介した自然免疫応答は、I型インターフェロン産生を含む。近年、ウイルスの自然免疫誘導の回避機構として、デング熱ウイルスの非構造蛋白質NS2B3が、RLRsやTLR3を介したシグナルを抑制し、I型インターフェロン産生を阻害することが示された。つまり、NS2B3は、デング熱ウイルスの自然免疫回避機構の一つと考えられる。

マラリア原虫と同様に、デング熱ウイルスもネッタイシマカやヒトスジシマカといった蚊を媒介として、ヒトに感染する。デング熱ウイルスの血清型は4つ存在し、このウイルスに感染すると、デング熱と呼ばれる一過性の発熱と頭痛、眼窩痛、筋肉痛、関節痛を示す。デング熱発症患者の一部は、血漿漏出と出血傾向を主症状とするデング出血熱を引き起こし、ひどい場合にはショック状態に陥ることもある(デングショック症候群)。有効なワクチンが望まれているが、ワクチン開発において増悪抗体の産生というハードルが存在する。増悪抗体とは、ある1つの血清型に対する抗体が、ほかの血清型の感染を増悪させる抗体である。増悪抗体によって、致死率が増加することが明らかとなっている。つまり、4つの型に対してバランスよく中和抗体を誘導するワクチンの開発が必須である。現在、デング熱ワクチンの上市品はなく、開発段階にあるワクチンに関しても、感染増悪抗体の出現をクリアしているものはないと考えられる。

おわりに

免疫は、読んで字のごとく、疫を免れる宿主の感染防御機構の総称である。その仕組みは、膨大な数の分子や細胞、そしてそれらが連鎖反応することによって成立される。しかしながら、現時点で問題とされている病原体は、宿主の免疫機構を回避する術を有していると考えられる。ワクチンが必要とされている感染症は、本稿で挙げたもののみならず、ほかにも多く存在する。感染症と免疫の作用機序解明は、ワクチン開発につながる非常に重要な研究テーマであり、多方面からの解析によって、一つでも多くの感染

症撲滅を期待する。

文献

- 1) Nejentsev S, et al: Rare variants of IFIH1, a gene implicated in antiviral responses, protect against type 1 diabetes. *Science* 324: 387-389, 2009
- 2) Koyama S, et al: Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes. *Sci Transl Med* 2: 25ra24, 2010
- 3) Speletas M, et al: TLR2 and TLR4 polymorphisms in familial Mediterranean fever. *Hum Immunol* 70: 750, 2009
- 4) Leoratti FM, et al: Variants in the toll-like receptor signaling pathway and clinical outcomes of malaria. *J Infect Dis* 198: 772-780, 2008

医学書院WEBサイトをご利用ください。

<http://www.igaku-shoin.co.jp>

● 検索機能が充実

医学書院の発行物を簡単に検索できます。
「詳細検索」画面では、詳細な検索条件を指定してピンポイントに検索できます。

● 中身も見える商品詳細ページ

書籍については、序文、目次のほか「立ち読み」ページで内容の一部を、
雑誌については、過去2年分のバックナンバーの目次をご覧になれます。

● ショッピングカートシステムで、

ご希望の商品が見つかったら、その場で注文できます。
商品は代理店から直送いたします。

● 週刊医学界新聞

のページでは、最新の医学・看護情報をお届けします。
バックナンバーは、1996年からご覧になれます。
また、メールマガジンで購読の申込も受け付けています。



医学書院

〒113-8719 東京都文京区本郷1-28-23

【販売部】TEL: 03-3817-5657 FAX: 03-3815-7804

E-mail: sd@igaku-shoin.co.jp <http://www.igaku-shoin.co.jp> 振替: 00170-9-96693

携帯サイトはこちら



宿主の生体バリア

—腸管, 肺, 皮膚における新たな免疫細胞とその機能

石井 健

第1, 2章にて感染のバイオロジー, 共生のバイオロジーのトピックが展開されているが, 第3章ではこれらに呼応すべく宿主の生体バリアの新たな機能についてフォーカスを当てている。特に, 昨今の免疫学研究のなかでも最もホットな領域の1つである腸管, 肺などの粘膜免疫や, 皮膚における新たな宿主免疫細胞, その新規機能の発見について, 最前線の研究を紹介したい。

はじめに

宿主免疫の最前線は皮膚や消化管, 呼吸器, 生殖器, 眼球などの粘膜であり, 生体バリアともよばれる。皮膚, 粘膜は生体内において, 微生物のみならず, 内因性の代謝産物, 食物, 環境物質, 医薬品, 化粧品などの外来からの生物学的, 物理的, 化学的ストレスに常に曝されながらホメオスタシスを保つことを要求される¹⁾。特に, 免疫学的にみると, 粘膜の生体バリアは病原性微生物の侵入を認識しそれらを排除する免疫応答を誘導する, 一方, 常在菌や食物抗原などに対して不必要な免疫応答は誘導しない, という一見同時に成り立たせるには非常に困難な作業を行うことができる。この点のみ鑑みたとしても, 皮膚, 粘膜の免疫機構がいかに繊細かつタフである必要があるか想像に難くない。それは物理的, 解剖学的バリアとしての皮膚, 粘膜において液性免疫, 細胞性免疫システムが重層的かつ時空間的ネットワークを形成し, 天文学的な数の自己-非自己の識別, 寛容, 排除といったプロセスが24時間, 何十年と行われていることを意味する。

一方で, このような繊細な仕組みがいつ破綻してもおかしくないことも事実である。第2章で詳細に述べられているように, 宿主の免疫システムと共生菌との相互作用の異常, 破綻は,

【キーワード&略語】

宿主免疫, 生体バリア, 皮膚, 粘膜, M細胞 (microfold/membranous cell), CD8⁺T細胞, インバリアントNKT細胞, IL-33, 表皮ブドウ球菌

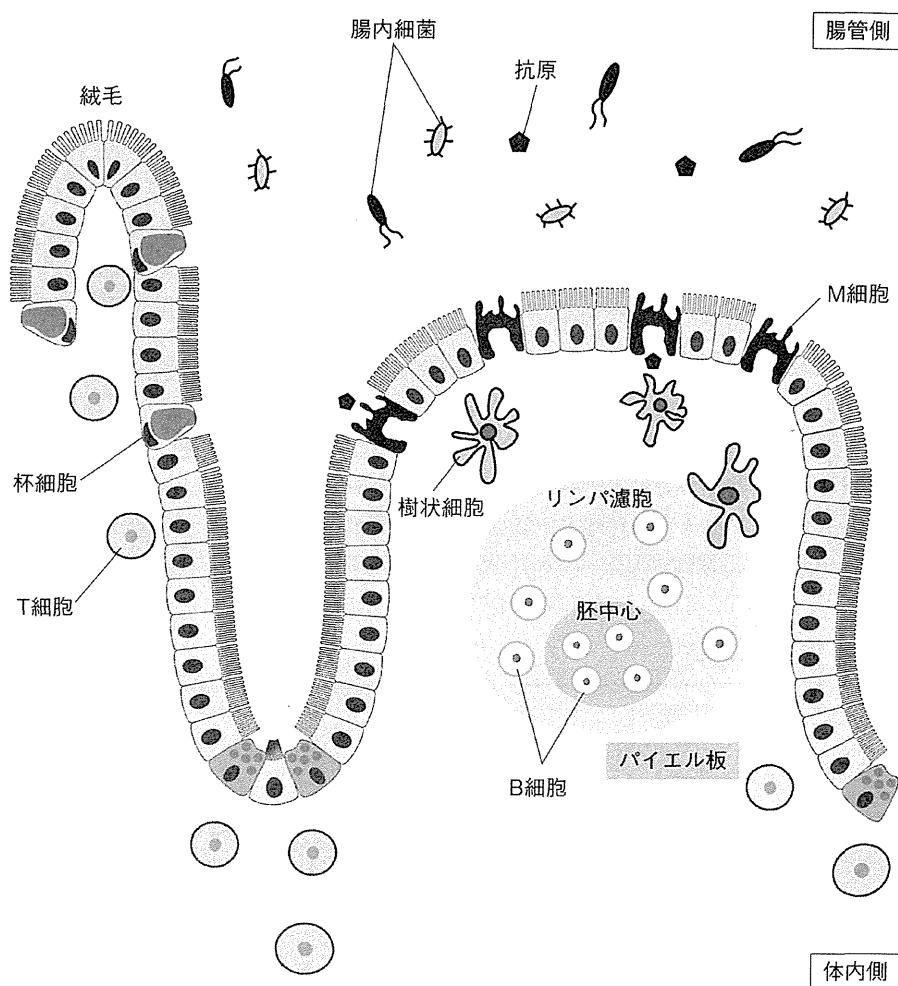
CLP: common lymphoid precursor

ILCs: innate lymphoid cells (新規自然免疫細胞)

Treg: regulatory T cell (制御性T細胞)

Topics of newly identified functions of immune cells in the front line of host barrier—the skin, lung and gut

Ken J. Ishii: Laboratory of Vaccine Science, Immunology Frontier Research Center, Osaka University/Laboratory of Adjuvant Innovation, National Institute of Biomedical Innovation (大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学/医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト)

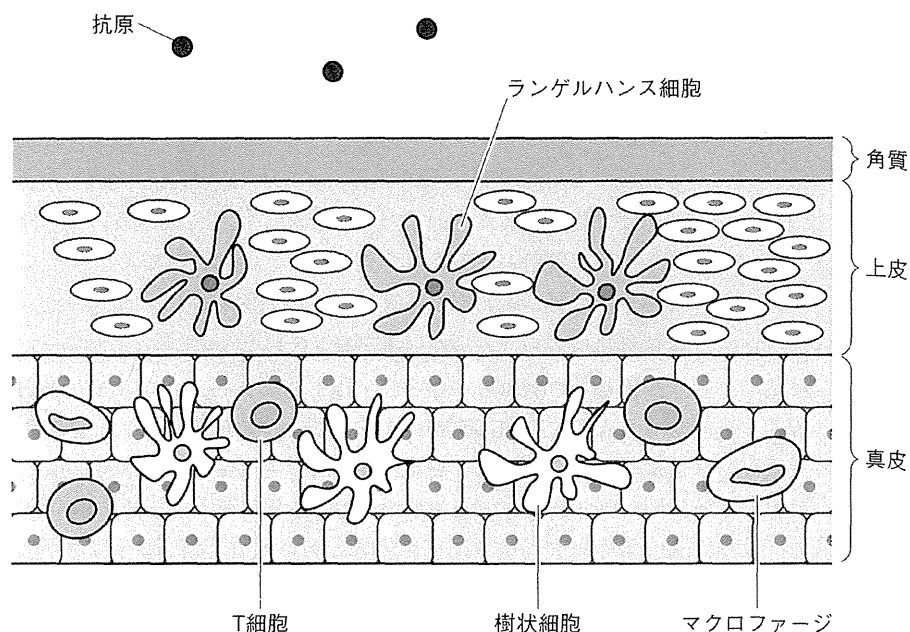


概念図1 腸管粘膜における生体防御

アレルギー・自己免疫疾患を含め多くの疾患の病理，病態と関連していると考えられている。これらの原因が解明され，免疫学的に皮膚や粘膜の免疫反応を精密に制御できるようになれば，単に感染症の予防や治療に留まらず，アレルギー・自己免疫疾患など多くの免疫関連疾患の病態解明や治療にも役に立つであろうと期待されている²⁾。本章ではこれらの生体バリアの免疫機構のなかでも最近明らかにされてきた粘膜，皮膚の新たな免疫担当細胞やその機能と生理学的意義を5つの研究グループに詳説していただいた。

1. 腸管粘膜固有層における生体防御

腸管上皮と筋層の間に存在する粘膜固有層は腸管免疫の実効組織として長らく考えられてきたが，他の臓器にはみられない，腸管免疫に特有な免疫機構を有していることが最近の研究で明らかになりつつある。自然免疫と獲得免疫の橋渡し役である樹状細胞を例にとってみても，いくつかのユニークな樹状細胞が存在する（概念図1）。ミエロイド系の樹状細胞だけをみても



概念図2 皮膚における生体防御

CX3CR1, CD103といった細胞表面抗原の発現レベルで区別されるサブセットに分けることができ、これらの細胞における転写因子やTLR, サイトカインの発現などの違いからその機能もバラエティーに富んでいることが明らかになってきた。これらの樹状細胞は自然免疫における機能だけでなく、獲得免疫担当細胞である各種CD4Tヘルパー細胞(Th1, Th17)や制御性T細胞(Treg), IgA産生B細胞, CD8T⁺T細胞の誘導に非常に重要な役割を担っており、その詳細が最近の知見で次々と明らかになってきている(第2章-2, 4および第3章-1, 2)。そのなかでも新たに同定された細胞としてCX₃CR1^{high}CD11b⁺CD11c⁺の特徴をもったミエロイド系の細胞(Mreg)が直接炎症性のCD4T細胞の増殖を抑制することが見出され、Foxp3⁺制御性T細胞(Treg)やFoxp3⁻IL-10発現T細胞(Tr1)に加え第3の新規免疫抑制細胞であることが見出された。これらの知見は第3章-1にて香山らに詳説していただいた。

腸管組織においては他の粘膜、皮膚と比較しても明らかに多くの食餌関連抗原、常在細菌に曝露されている。そのため、これらの抗原に対する免疫寛容と、病原体に対する免疫応答の間に絶妙なバランスが維持される必要がある。腸管に特異的なパイエル板などの腸管関連リンパ組織(GALT)や腸管粘膜固有層といった免疫実効組織が存在する(概念図1)。パイエル板は小腸に点在するドーム状のリンパ組織で、M細胞(microfold / membranous cell)とよばれる特殊な上皮細胞が存在し、腸管腔からの抗原を活発に取り込むことが知られている。これらの細胞や組織の詳細、とくにM細胞特異的な細菌受容体GP2の発見やM細胞特異的な転写因子Spi-Bに関する最新の知見を金谷らに第3章-2で詳しく解説していただいた。

2. 肺・皮膚の生体防御

組織特異的な免疫リンパ組織，その機能の面白さは腸管粘膜に留まらない，呼吸器系における粘膜でも自然免疫，獲得免疫にかかわる各種細胞のサブセットが次々に同定されつつある．呼吸器疾患，特に肺炎は日本人の死因の第3位を占め，その原因で最も多いのが肺炎球菌であるが，肺炎球菌の糖脂質成分を認識する細胞としてインバリアントNKT細胞が同定された．その生理的意義や新たな治療法開発への発展も期待されている．このあたりの最近の知見を金城に詳細に解説いただいた（第3章-3）．

皮膚はわれわれの生体バリアの主体をなし，さまざまな外的な環境に対し反応するためにさまざまな免疫担当細胞が存在することが知られている（概念図2）．最近のトピックとして，皮膚の免疫担当細胞は皮膚常在菌からさまざまな刺激を受け取り，病原性細菌の定着を阻害するといったような新たな機能が明らかになってきた．最近の皮膚の免疫システム研究の総括も含め，表皮ブドウ球菌による抗菌ペプチド，IL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞の誘導など最新の皮膚免疫システムの知見を中溝らに詳説していただいた（第3章-4）．

3. 腸管の寄生虫に対する防御

皮膚，粘膜免疫に留まらないほどの注目が注がれている免疫担当細胞が，自然免疫系においてCD4⁺ヘルパーT細胞サブセット（Th1，Th2，Th17）と同様のサイトカイン（IFN γ ，IL-4，IL-5，IL-13，IL-17，IL-22）を産生する新規自然免疫細胞（innate lymphoid cells：ILCs）であろう．ILCsはCLP（common lymphoid precursor）から分化するが，抗原受容体を発現しておらず，腸管粘膜固有層や呼吸器粘膜にも多く存在している．そのサイトカインプロファイルにより，ILC1（IFN γ ），ILC2（IL-4，IL-5，IL-13），LTI（IL-17，IL-22），NK22（IL-22）といったサブセットが提唱されており，今後の研究の発展が非常に楽しみな領域になっている³⁾．本章では，第3章-5において安田に腸管寄生虫感染時においてIL-33に反応して大量のIL-4，IL-13を産生するII型ILCsの役割を詳しく解説していただいた．

今回，第3章に執筆をお願いした研究グループ以外にも多くの研究グループが関連領域における成果を出しており，本増刊号に掲載できなかったことは残念であり，この場をお借りしてお詫びいたします．

文献

- 1) Turne, J. R. : Rev. Immunol., 9 : 799-809, 2009
- 2) Ivanov, I. I. & Littman, D. R. : Curr. Opin. Microbiol., 14 : 106-114, 2011
- 3) Koyasu, S. & Moro, K. : Front. Immunol., 3 : 101, 2012

<著者プロフィール>

石井 健：巻末の編者プロフィールを参照．

感染・共生・生体防御研究から生まれる 新たな疾患予防，治療法ターゲット

石井 健

第1～3章にて感染・共生・生体防御の最新の研究の紹介がなされた。本書からも明らかなように、これらの研究領域は従来の分子生物学、細胞生物学、臨床研究などの手法に加え、ゲノム、プロテオーム、メタボロームなどのオミクスとバイオインフォマティクスの技術革新が加わり、まさに日進月歩の勢いである。それでは、これらの研究成果のなかに疾患予防や治療に役に立つようなターゲットがあるのだろうか？ あるのであればどのような研究が進んでいるのか？ 本章ではこのような観点から、感染・共生・生体防御の3つの研究領域をまたぐ形で進んでいる、ネクローシス細胞死、インフラマソーム、細胞外核酸、粘膜ワクチン、mTORによる免疫療法、粒子アジュバントなどの最新の研究成果と、そこから生まれる感染症、がん、アレルギー、免疫関連疾患、さらには生活習慣病まで、各種疾患の予防や治療方法開発研究への道筋を、それぞれの研究グループに詳細に解説していただいた。

はじめに

2012年のノーベル生理学・医学賞はiPS細胞を開発した京都大学の山中伸弥氏に授与され、科学界、医療業界を含め日本中が歓喜し、希望に沸いている。一方で、せめて本書の読者に忘れないでいただきたいのは、ほんの1年前、2011年のノーベル生理学・医学賞が、自然免疫の研究とその後の獲得免疫の橋渡しとしての樹状細胞の研究の先駆者たち（Bruce A. Beutler, Jules A. Hoffmann, Ralph M. Steinman）に与えられたという事実、そしてその後の展開の重要性である¹⁾。実際、本書の第1～3章にて展開されている「感染・共生・生体防御」の研究成果の多くはこの2011年のノーベル賞の領域、自然免疫や樹状細胞研究に深く関連しているものが多い。そして本章で触れられている「感染・共生・生体防御」の研究の先に期待されている予防や治療方法開発への波及効果はiPS細胞にも引けをとらない可能性がある。実際にそ

【キーワード&略語】

生体防御，予防，治療，炎症，細胞死，免疫記憶，ワクチン，アジュバント，細胞外微粒子

NCD : non-communicable diseases (非感染性疾患)

NET : neutrophil extracellular traps

Seeking new targets for disease prevention and/or intervention hidden in infection, symbiosis and immunity

Ken J. Ishii : Laboratory of Vaccine Science, Immunology Frontier Research Center, Osaka University/Laboratory of Adjuvant Innovation, National Institute of Biomedical Innovation (大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学/医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト)

のターゲットとなる疾患は、いままでワクチン開発等が主に行われていた感染症領域に留まらない。がん、アレルギー、自己免疫疾患などの免疫が関連することが知られている疾患、さらには高血圧、動脈硬化、糖尿病、アルツハイマー病などまで含む、いわゆるNCD (non-communicable diseases, 非感染性疾患) にまで広がりをみせている²⁾。

1. 炎症・細胞死研究の新たな創薬ターゲット

共生・感染における宿主の「炎症」と「細胞死」はその相互作用の主体をなすといっても過言ではない。宿主細胞のホメオスタシスとその破綻において、その最終運命決定機構として「プログラムされた細胞死」が知られている。最近の研究でこれと同義語として扱われてきたアポトーシスと対比され、「偶発的な細胞死」として考えられていたネクローシスのなかにもプログラムされたネクローシス、すなわち「ネクロトーシス」という形があることが明らかになりつつある³⁾。この2～3年で非常に盛んになってきた研究分野であるが、なかでもRIPキナーゼがそのシグナル伝達経路における重要な鍵を握っていることが次々と明らかになっている。このあたりの最新の知見を高橋らに第4章-1にて詳説していただいている。

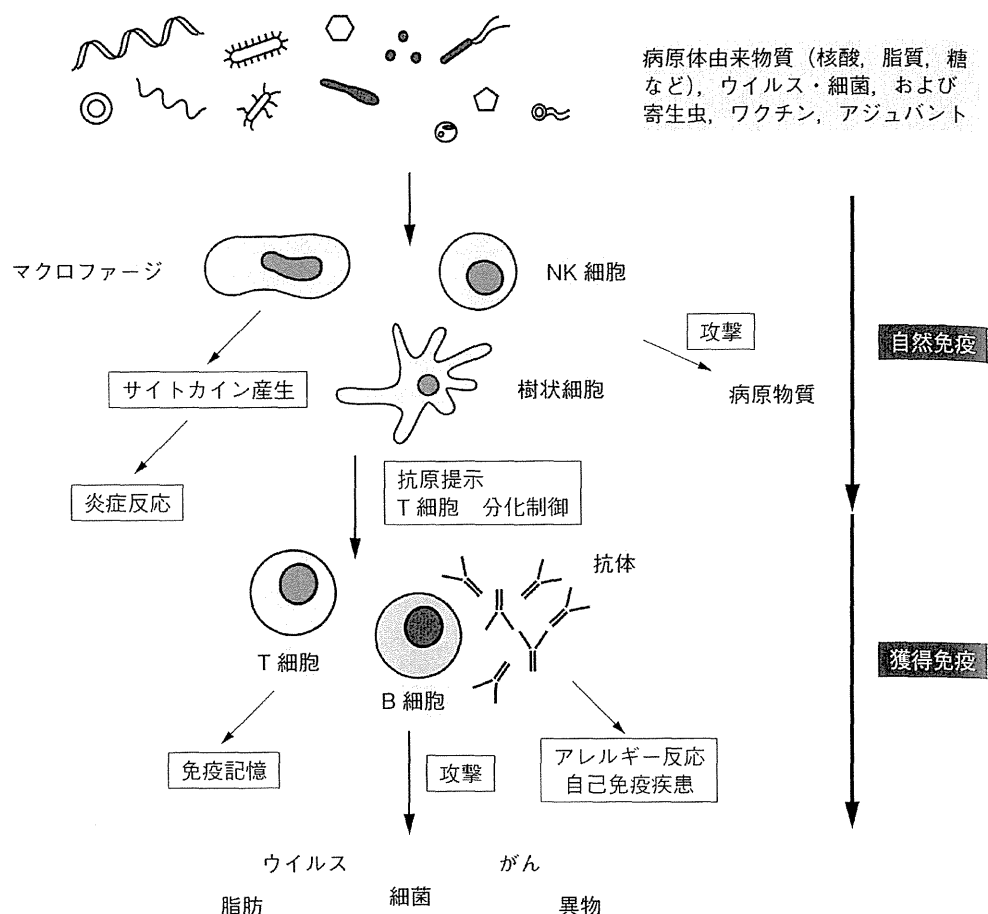
共生における適度な「炎症」はわれわれの免疫システムの形成に必須であり、感染の際の炎症は生体防御の初期反応、すなわち自然免疫反応の主体である。しかしその炎症の強弱、時空間的な破綻は、感染症の病理の典型例であるのはもちろん、各種の免疫関連疾患から生活習慣病に至るまで、そのトリガーや病態の遷延、拡大に寄与することが最近の研究で示唆されつつある。この領域で最も盛んに行われているインフラマソームの研究分野のなかで、酸化ミトコンドリアDNAに着目したユニークな研究とその臨床応用の可能性を島田に解説していただいた(第4章-2)。

2. ワクチンサイエンスの新展開

感染症の研究分野、特に免疫学はもともとジェンナーやパスツールが発見した『ワクチンを接種すると2度目の感染症状がない(免疫がつく)』という生体の現象』を理解しようとした研究が起点であるといえよう。しかし、ワクチン開発研究が近代の免疫学のなかでトップサイエンスとして認められていたとはいえ、ワクチンがなぜ効くのか、またあるときはなぜ効かないのか、自然免疫や免疫記憶の分子レベルでの理解度がようやく上昇してきたところである。本章ではこのワクチンサイエンスのなかで最も重要、かつ競争の激しい分野である「免疫記憶」と「粘膜ワクチン」における最新の研究成果をそれぞれ荒木(第4章-3)と国澤ら(第4章-4)に詳説いただいた。

3. 細胞外微粒子のバイオロジーと臨床応用

最後に私自身が将来的に興味深いと考えている生体防御の研究分野として「細胞外微粒子」をあげさせていただきたい。共生・感染およびその宿主の生体防御反応において、多くの微生物は細胞より大きいものを除けば数十nm～数 μ mの微粒子である。また、微生物以外でも細胞死によって放出されるデブリやエクソソーム、尿酸結晶やマラリア感染時に放出されるヘモゾイン、脳内の β アミロイドなどのバイオクリスタル、細菌のバイオフィルムやNET (neutrophil



概念図 細胞外微粒子の引き起こす生物学的反応

extracellular traps) に代表される細胞外核酸⁴⁾などの細胞外微粒子はそれぞれいろいろな生物学的反応を引き起こすことが知られている（概念図）。感染症以外の疾患に目を向けてみると、環境中から取り込まれた非感染性の微粒子，例えば花粉，黄砂，プリンターなどに用いられる人工ナノ粒子，化粧品や医療製剤として頻用されるようになってきたナノ粒子，リポソームやそしてワクチンアジュバントといった外来性の細胞外微粒子が体内に入り，いろいろな生物学的作用を示すことが知られている。これらの物質のなかにはインフラマソームの活性化などが報告されているものが多いが，今後も新たな生体応答反応が明らかになるであろうと思われる。すべての領域をカバーすることは厳しいが，本章ではそのなかでも「粒子アジュバント」に関して黒田（第4章-5）に，「細胞外核酸」に関しては城内ら（第4章-6）に最近の知見を詳説していただいた。

今回，第4章に執筆をお願いした研究グループ以外にも多くの研究グループが関連領域における成果を出しており，本増刊号に掲載できなかったことは残念であり，この場をお借りしてお詫びいたします。

文献

- 1) Wagner, H. : Eur. J. Immunol., 42 : 1089-1092, 2012
- 2) Trivedi, B. : Science, 337 : 1479-1481, 2012
- 3) Vandenabeele, P. et al. : Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 11 : 700-714, 2010
- 4) 『Extracellular Nucleic Acids』 (Kikuchi, Y. & Rykova, E. Y. /ed.) , Nucleic Acids and Molecular Biology, Vol.25, Springer, 2010

参考文献

- ・ Levitz, S. M. & Golenbock, D. T. : Cell, 148 : 1284-1292, 2012
- ・ Desmet, C. J. & Ishii, K. J. : Nat. Rev. Immunol., 12 : 479-491, 2012
- ・ Aoshi, T. et al. : Curr. Opin. Virol., 1 : 226-232, 2011

<著者プロフィール>

石井 健：巻末の編者プロフィールを参照.

6. 細胞外核酸の生物学的意義と臨床応用

城内 直, 石井 健

核酸は、細胞内において遺伝子発現を担うだけでなく、細胞外にも存在し、自己免疫疾患、炎症性疾患、がんの病態に関与している。これを利用して、疾患のバイオマーカーへの応用がすでに研究されている。また、細菌感染の防御に関与する好中球由来の細胞外DNAも報告されている。さらに、感染防御に留まらず、細胞外DNAを介したワクチンアジュバントの作用機序も報告されている。これらの事象から、細胞外核酸は多様な機能を担うと推察される。本稿では、細胞外核酸の生理的意義と作用機序、そしてその臨床応用について概説したい。

はじめに

細胞内外、そして自己・非自己にかかわらず、生体内には非常に多くの核酸が存在している。特に、生体内の細胞外核酸のレベルは、日常に起こる細胞死、病原微生物感染、慢性炎症疾患、創傷など、さまざまな要因により変動する。生体内では、これら細胞外の核酸を処理し、一定レベルに保つことで恒常性を維持している。この細胞外核酸の調節機構が破綻すると、慢性炎症性疾患、自己免疫疾患の発症リスクが増加する

可能性も示唆されている。一方で、細胞外核酸は微生物感染防御にも深く関与している。具体的に、病原微生物感染において、好中球はNETs (neutrophil extracellular traps) とよばれるDNAとさまざまなタンパク質の複合体を細胞外に放出し、網目状に張り巡らせて病原微生物を捕捉し、殺菌する。さらに、最近の研究から、ワクチンによく用いられるアラムアジュバント (第4章-5) の作用機序の1つとして、細胞外核酸の存在が明らかとなった。このように、細胞外核酸はさまざまな生理作用に結びついているため、疾

[キーワード&略語]

NETs, ワクチンアジュバント, TLRs, TBK1, LL37

DAMPs : damage-associated molecular patterns

GAS : group A streptococcus (A群レンサ球菌)

IKK ϵ : inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase epsilon

NETs : neutrophil extracellular traps

PAMPs : pathogen-associated molecular patterns

pDCs : plasmacytoid dendritic cells (形質細胞様樹状細胞)

SLE : systemic lupus erythematosus (全身性紅斑性狼瘡)

TBK1 : TANK-binding Kinase 1

TLRs : Toll-like receptors (Toll様受容体)

The Biological features of extracellular DNA and RNA

Nao Jounai¹⁾²⁾/Ken J. Ishii¹⁾²⁾ : Laboratory of Vaccine Science, Immunology Frontier Research Center, Osaka University¹⁾/Laboratory of Adjuvant Innovation, National Institute of Biomedical Innovation²⁾ (大阪大学免疫学フロンティア研究センターワクチン学¹⁾/医薬基盤研究所アジュバント開発プロジェクト²⁾)

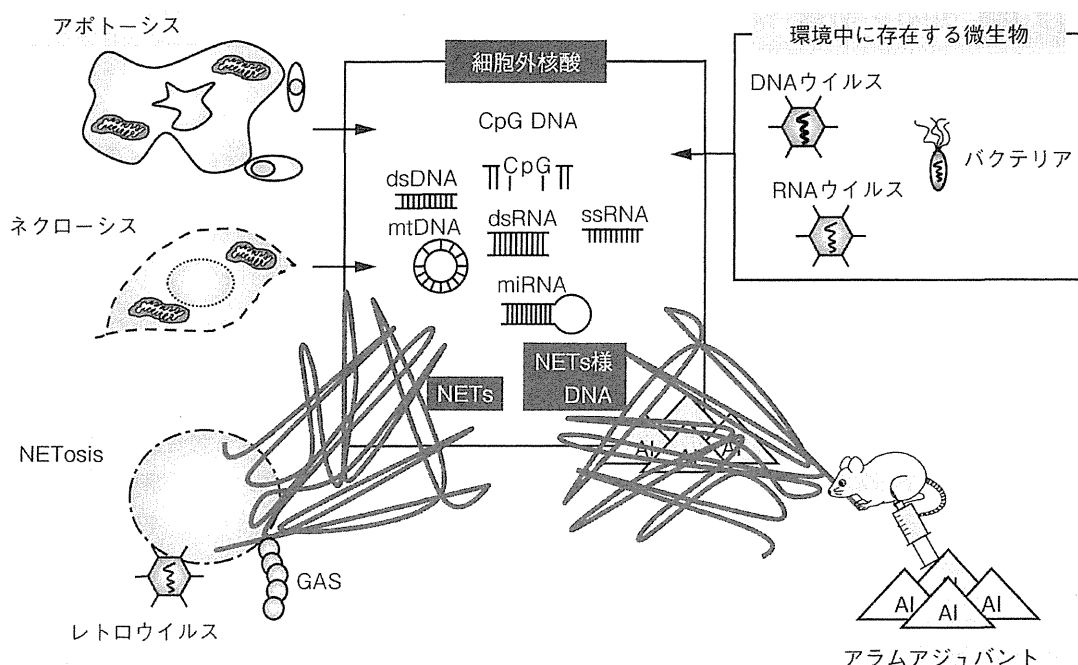


図1 細胞外核酸の供給源
詳細は本文参照

病の診断マーカーとしての有用性が高い。また、非メチル化CpGモチーフや二本鎖RNAは、近年ワクチンアジュバントとして注目されているが、これも代表的な細胞外核酸の臨床応用とみなすことができる。本稿では、細胞外DNAまたはRNAの由来、生物学的意義と作用機序から、細胞外核酸の臨床応用まで、これまでの知見とさらなる可能性について述べる。

1 細胞外核酸の種類とその由来

われわれの体は、アポトーシスまたはネクローシスといった細胞死を日常的に経験している。細胞の代表的な構成要素として、脂質、糖、タンパク質、そして核酸があげられるが、これらは死細胞から細胞外に放出される。よって細胞死は、1つの細胞外核酸産生メカニズムとして研究されている。もう1つに、細胞の核酸代謝により、恒常的に細胞外へDNAを分泌するメカニズムも報告されている。細胞外に存在する核酸の種類として、ゲノムDNA、ミトコンドリアDNA (mtDNA)、RNA、マイクロRNA (miRNA) が報告されている (図1, mtDNAについては第4章-2を参照)¹⁾。これらの細胞外核酸は血中に認められるが、なかには

タンパク質や脂質と複合体を形成することにより、血中の核酸分解酵素から免れているものもある。RNAに関しては、がん患者の血中において、がん関連RNA断片が多量に認められている。miRNAに関しては、細胞内では遺伝子発現制御に関する機能が報告されているが、近年、血中での存在も報告されており、セラミド依存的な分泌機構により細胞外へ産生される。血中miRNAは、細胞死を起こした細胞からアポトーシス小体とよばれる直径1 μmの膜小胞やエクソソームとよばれる分泌小胞 (直径50~100 nm) に内包され、存在する²⁾。また、Ago2とよばれるタンパク質との複合体も報告されている³⁾。

前述した細胞外核酸の多くは定常状態においても認められるが、細菌感染によって誘導される細胞外DNAも存在する。よく研究されているのは、NETsとよばれる網目状のタンパク質とDNAの複合体である (図1)。NETsは細菌感染によって強く誘導されるが、TLRs (Toll-like receptors) リガンドを用いた刺激やPMA (phorbol myristate acetate) 刺激によっても誘導される。NETsの構成要素は、DNAのみではなく、ヒストンやエラスターゼ、HNP (human neutrophil

peptide), BPI (bactericidal/permeability increasing) タンパク質と複合体を形成している。NETs誘導の起因として、PKC (protein kinase C) を介したROS (reactive oxygen species) 産生が報告されている⁴⁾。ROS産生は細胞死を引き起こし、好中球由来のNETs形成が誘導される。興味深いことに、NETs形成時に誘導される細胞死は、アポトーシスやネクローシスと異なる特徴を有しており、これら細胞死と区別するため、NETosis (ネトーシス) とよばれる単語も存在する⁵⁾。NETs形成に関連して、ワクチンに用いられるアラムアジュバントも細胞外DNA産生を誘導することが示唆されている⁶⁾。しかしながら、アラムアジュバントによって誘導される細胞外DNAが好中球由来であるのか、現在解析中である。

これまでにあげた細胞外核酸は自己由来のDNAまたはRNAであるが、非自己の細胞外核酸も報告されている。例えば、抗生物質であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌は、細胞壁分解酵素による自己消化によって産生される細菌ゲノムDNAが報告されており、薬剤耐性菌のバイオフィーム形成に重要な働きを示すことが報告されている⁷⁾。また、環境中にも細胞外核酸が多量に存在し、海底の堆積物においては、乾燥重量1グラムあたり1 ng~31 μ gであるとの報告もある(図1)。これらの細胞外DNAは、その環境に存在する真核・原核生物、ウイルス由来であることが明らかとなっており、その環境に生息する微生物の新たな形質獲得に関与していると考えられている。

2 細胞外核酸の生物学的機能

1) 炎症性疾患との関連

死細胞から産生される自己由来の細胞外核酸は、炎症応答の誘導と密接にリンクしている。例えば、病原微生物感染によって引き起こされた細胞死は、細胞外核酸の供給源となり、さまざまな細胞がこれら細胞外核酸を認識し、局所から全身に炎症応答を誘導する。それゆえ、古くから細胞外DNAは、DAMPs (damage-associated molecular patterns) の1つとして考えられていた。これと対を成して、PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) とよばれる、病原微生物由来の自然免疫活性化リガンドを指す単語も存在する。代表的な核酸系PAMPsとして、病原微生物由

来のゲノム核酸があげられる。興味深いことに、DAMPs, PAMPsはその認識機構を共有し、炎症応答を誘導しているように見受けられる。例えば、DNA核酸の認識に重要なTLR9は、自己・非自己にかかわらず、DNAによる炎症応答誘導に重要な役割を担っている(図2, 図3)。

PAMPs, DAMPsともに、外来微生物の侵入を防ぐためのマーカーとして認識され、宿主はその排除を行う。しかしながら、慢性炎症性疾患、自己免疫疾患、がんの患者においては、細胞外DNAやRNAのレベルが有意に高いことが示されている。つまり、細胞外核酸のレベルは炎症性疾患に密接にかかわることが明らかとなった(図2)。この機序は、マウスを用いた細胞外DNA代謝・分解の研究から明らかとなった。

血清中や尿など分泌液には、数々のエンドヌクレアーゼが含まれている。その1つであるDNase Iは、死細胞由来の細胞外ssDNA (single stranded DNA) やdsDNA (double stranded DNA) またクロマチンの代謝・分解を担っている。DNase IのDNA分解活性は、*in vitro*の系においてネクローシス後のクロマチンを分解し、低分子のDNA断片にすることが確認されている⁸⁾。この細胞外DNA代謝にかかわるDNase Iを欠損したマウスでは、炎症疾患である全身性紅斑性狼瘡 (systemic lupus erythematosus : SLE)^{※1}の症状を示すことが認められた。また、多くの炎症性疾患の指標である抗dsDNA抗体や抗ssDNA抗体、ヌクレオソームに対する抗体も検出された。これらのことから、DNase I欠損による細胞外DNA代謝異常が、慢性炎症応答を誘発し、SLEのような炎症性疾患の引き金となっていることが示唆される。これを支持する報告として、SLE様の症状を呈する他のマウス種NZB/NZWマウスにおいても、DNase Iの血中濃度が著しく低下しており、高い抗DNA抗体レベルも確認されている。ヒトでの報告例として、SLEの患者におい

※1 全身性紅斑性狼瘡 (SLE)

自己免疫疾患の1つ。全身のさまざまな場所に多様な炎症症状を引き起こす病気の総称。皮膚にできる発疹が、狼に噛まれた痕のような赤い紅斑であることから、病名が名付けられた。原因は、遺伝的要因から環境要因までさまざまである。SLE患者の95%以上で、血液中の抗核酸抗体が高いレベルで認められる。

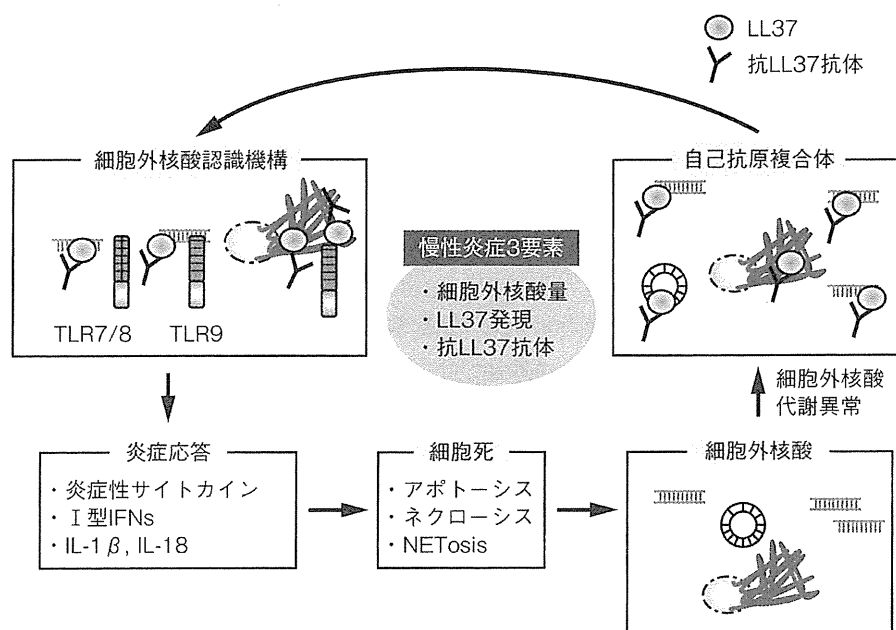


図2 細胞外核酸代謝異常による炎症性疾患
詳細は本文参照

てDNase I の変異が確認されており, exon2 のA172G が2人の女性で確認されている⁹⁾。その他にも, DNA代謝異常によって過剰な炎症応答が誘発され, 慢性炎症疾患の症状を呈することが, DNase II 欠損マウス, TREX1 (DNase III) 欠損マウスを用いた研究においても報告されている^{10) 11)}。これらのことから, 細胞外核酸の代謝異常は, 炎症性疾患を誘発し, 数多くの慢性炎症性疾患の起因となっている可能性が示唆される。

2) NETsによる細菌感染の排除

NETsは好中球によって産生され, 細菌感染の排除を担う。抗細菌活性は, NETsを形成しているDNA結合タンパク質が担っていると考えられる。逆をいえば, 血中に存在するゲノム由来のDNAやミトコンドリアDNAは, それ自体は殺菌活性を示さない。これらのことから, NETsを形成するDNAは抗菌機序に重要でないように見受けられるが, 実際は重要な機能を有している。事実, 細胞内感染細菌であるA群レンサ球菌 (group A *streptococcus*: GAS) 感染は, 好中球のNETs産生を誘導し排除されるが (図1), ある種のGAS株は分泌型DNaseを発現しており, NETsを破壊, 体内深部へ浸潤し症状を悪化させる¹²⁾。つまり, NETs構成成分であるDNAは, 細菌排除に重要な役割

を担っていることが示唆されている。NETsを構成するDNAの役割についてさまざまな意見があるが, 主に, 正に帯電する抗菌タンパク質を感染部位に停める滞留効果や, 菌の捕捉に重要であると考えられている。また, NETsが細菌感染のみならず, ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus type 1: HIV-1) の感染において, ウイルスの捕捉と失活を担うという研究報告もなされた¹³⁾。

NETsは病原微生物感染の排除に重要であるが, 最近の報告によるとSLEの患者において, 過剰なNETs形成が認められている¹⁴⁾。過剰なNETsの産生によって, NETs構成要素である自己DNAとそのキャリアータンパク質LL37の複合体が, 宿主認識機構を介したI型インターフェロン (Type I IFNs) を誘導し, 慢性的な炎症応答を誘発する (図2)。興味深いことに, SLE患者に認められるNETs形成は, 抗LL37抗体で患者から分離した好中球を刺激することによって誘導される。この結果は, SLEや乾癬の患者において, LL37発現が増強していること, そして抗LL37抗体が認められることと相関しており, 慢性炎症応答の誘導を説明する鍵となると考えられる (LL37については③で詳述)。

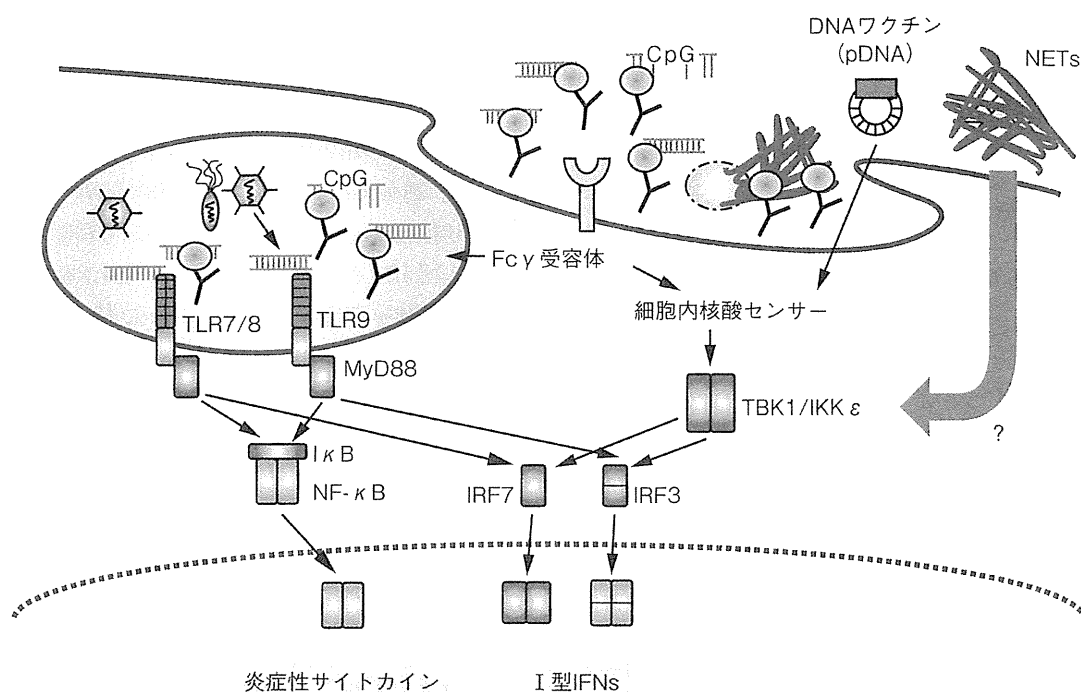


図3 細胞外DNAの認識機構
詳細は本文参照

3) アラムアジュバントとの関連

アラムアジュバントは、子宮頸がんワクチン、B型肝炎ワクチンなど、多くのワクチンに含まれる代表的なワクチンアジュバントである。アラムアジュバントを用いたワクチンでは、抗原特異的抗体が強く誘導されることが古くから認められていた。また、アレルギー反応の起因抗体サブクラスであるIgE誘導も増強されるが、その詳細な作用機序は不明であった。しかしながら近年、アラムアジュバントをマウス腹腔内に投与すると、投与カ所において大量の細胞外DNAが認められることが明らかとなった⁶⁾。アラムアジュバントの代わりに、裸のDNAと抗原を投与してもアラムアジュバントと同様な効果が得られたこと、さらに、アラムアジュバント投与カ所の腹腔浸潤液をDNase処理するとアラムのアジュバント効果が消失することから、アラムアジュバントにより誘導される細胞外DNAは、アラムのアジュバント効果を説明する作用機序の1つと考えられる。興味深いことに、アラムアジュバントによる細胞外DNAの出現は、IgE産生に強く関与して

いることも示唆されている。つまり、アラムアジュバントによる細胞外DNA産生は、アラムアジュバントの副作用の1つであるアレルギー応答増強の作用機序とみなされ、今後の詳細な解析によって、アレルギー反応を誘発しない安全なワクチン開発が可能となる。

4) 環境中の核酸の意義

細胞外DNAは生体内のみならず、われわれヒトを含めた生物個体外、つまり環境中にも数多く存在する。古くは1959年に、ヒト培養細胞において細胞外DNAが細胞に取り込まれ、分解から免れたわずかなDNA populationが、ゲノムへ取り込まれることが示されていた¹⁵⁾。分子生物学では、細菌の形質転換や薬剤耐性菌の出現メカニズムとしてよく研究されているが、真核細胞においても、細胞外DNAの取り込み、そしてゲノムへの組み込みが認められている。事実、われわれヒトゲノム内にもレトロウイルス由来の配列が同定されている。つまり、細胞外核酸は環境中にありふれており、免疫学における炎症応答誘発の起因としてだけでなく、生物の進化に重要な核酸種であることが

示されている。一方で、細胞の形質転換を引き起こす際の炎症応答の有無、または核酸の種類、配列、構造による核酸代謝の多様性など、いまだ不明な点は数多く存在する。

③ 細胞外核酸の認識機構

1) TLRの関与する経路

細胞外核酸の認識機構と作用機序は、近年精力的に行われている。そのなかでもよく研究されている分子は、核酸受容体であるTLR7またはTLR9である。TLR7はssRNAを認識するとされ、TLR9はssDNAや非メチル化CpGの受容体である。しかしながら、TLR7そしてTLR9ともに、細胞内のエンドソームに局在していると報告され、いかにして細胞外核酸がこれら受容体に認識されるかは、不明であった。SLEをはじめとした炎症性疾患の患者に認められる細胞外核酸は、抗DNA抗体や抗RNA抗体と複合体を形成していることから、Fc γ 受容体を介して細胞内に取り込まれ、TLR7やTLR9にコンタクトする可能性が示唆されていた¹⁶⁾。しかしながら近年、LL37とよばれるタンパク質がDNAキャリアータンパク質として機能し、TLR9へ細胞外DNAを送達する可能性が示唆されている¹⁴⁾。

LL37は抗菌ペプチド※2としてよく研究されており、NETs同様、好中球から産生される。LL37の抗菌活性は、主に細菌の細胞膜破壊と考えられる。これは、LL37が正に荷電しており、静電的に菌体膜表面に結合、挿入され、菌体膜に小孔を生じ、膜破壊を誘導するためであると考えられる。つまり、負に帯電している核酸と結合することは、容易に想像できる。SLE患者において、抗核酸抗体と同様に、LL37に対する自己抗体も多く認められる。このことは、細胞外DNAまたはNETs-LL37-抗LL37抗体の免疫複合体が、Fc γ 受容体を介してTLR9を発現する形質細胞様樹状細胞

(plasmacytoid dendritic cells : pDCs)に取り込まれ、炎症性サイトカイン産生を引き起こすと考えられる(図3)。細胞外DNAとLL37の免疫複合体が、SLE患者における起因物質であることは示されているが、同様に、細胞外RNAとLL37の複合体に関しても、ヒトの樹状細胞を活性化することが示されており、細胞外RNA-LL37-抗LL37抗体がTLR7またはTLR8を介して、慢性炎症性疾患の起因となる可能性が示唆されている¹⁷⁾。

2) I型IFNsの関与する経路

細胞外核酸が細胞内へ取り込まれた後の下流シグナル分子として、前述したようなTLR7/8/9以外にも、数多くの受容体候補分子が同定されている。どの分子もすべての核酸認識機構を説明するには至っていない。しかしながら、核酸の刺激によって誘導される炎症性サイトカイン、特にI型IFNs産生にかかわる必須因子が同定されている。これはDNAワクチンの作用機序解析から見出された。

DNAワクチンとは、抗原遺伝子を発現するプラスミドDNA(pDNA)を生体内に投与し、pDNAを取り込んだ細胞内で抗原が発現し、その抗原に対して免疫を誘導するワクチン手法である。つまり、細胞外DNAの作用機序を利用したワクチンの手法であるとも捉えられる。当初、pDNAは細菌由来であり、非メチル化CpGモチーフを含むことから、TLR9が受容体として考えられていた。しかしながら、TLR9欠損マウスにおいても、DNAワクチンの免疫原性が減弱しないことから、他の作用機序が存在することが示唆されていた。そこで、自然免疫にかかわるさまざまな分子の欠損マウスを用いて免疫実験を行った結果、I型IFNs受容体の欠損マウスにおいて、DNAワクチンの免疫原性が顕著に低下したことが認められた。I型IFNs発現は、転写因子であるIRF3またはIRF7がリン酸化され活性化することにより、誘導される。これら転写因子を活性化するリン酸化酵素はTBK1(TANK-binding kinase 1)またはIKK ϵ (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit epsilon)であることが示されている。そこで、TBK1/IKK ϵ の欠損マウスにDNAワクチンを投与したところ、DNAワクチンの免疫原性の消失が認められた¹⁸⁾。このことから、DNAワクチンの作用機序にはTBK1を介した自然免疫の活性化が重要である

※2 抗菌ペプチド

微生物感染に対する防御機構の1つとして、生体が産生する30個ほどのアミノ酸からなるペプチド。ヒトの産生するペプチドとして、ディフェンシンやカテリシジンがよく知られている。産生細胞として好中球、上皮細胞が主にあげられる。LL37はカテリシジンのカルボキシ末端の37アミノ酸からなり、カテリシジンがプロテアーゼで切断されることにより産生される。