

図4 歯周病による歯周組織破壊のメカニズム。

歯周病による歯周組織破壊は、細菌に由来する酵素やビルレンス因子などの直接的な作用によっても生じるが、むしろその主体をなすのは、生体が細菌由来の刺激に対抗するために局所で産生する酵素や炎症性メディエーター、サイトカインなどの作用を介した組織破壊であると考えられている。結合組織の破壊は主に、好中球のファゴライソゾームに由来するセリンプロテアーゼやエラスターゼ、歯周組織構成細胞が産生するMMPsによって生じる。また骨吸収は、マクロファージや活性化リンパ球、歯肉線維芽細胞によって炎症性メディエーターやサイトカインが過剰に産生された結果、骨の吸収と添加のバランスが崩れることで進行すると考えられている。

# Annual Review 循環器 2012

2012年1月25日 発行

中外医学社

## 1. 大動脈疾患における遺伝子異常

国立循環器病研究センター研究所分子生物学部室長 森崎裕子

同 部長 森崎隆幸

**key words** aortic aneurysm and dissection, Marfan syndrome, Loeys-Dietz syndrome, vascular Ehlers-Danlos syndrome, arterial tortuosity syndrome, TGF- $\beta$  signaling pathway

### 動 向

*FBNI* 遺伝子異常による Marfan 症候群<sup>1)</sup>, *COL3A1* 遺伝子異常による血管型 Ehlers-Danlos 症候群<sup>2)</sup> のように, 結合組織を構成する細胞外マトリックス分子をコードする遺伝子の異常により発症する全身性結合組織疾患において高頻度で大動脈瘤・解離などを合併することは, 以前より知られていた. 一方, 近年になり, TGF $\beta$  受容体遺伝子 (*TGFBR1/TGFBR2*) の異常による Loeys-Dietz 症候群<sup>3)</sup> をはじめとして, 細胞外マトリックスや血管平滑筋細胞の機能維持に関係すると考えられている種々の遺伝子 (*SLC2A10, SMAD3*)<sup>4,5)</sup> の異常によっても大動脈病変をきたすものがあることがわかってきた. これ以外にも, 血管平滑筋細胞の細胞骨格タンパク質である血管平滑筋アクチンやミオシンに関係する遺伝子 (*ACTA2, MYH11, MYLK*)<sup>6-8)</sup> も遺伝性大動脈・解離の原因遺伝子として同定されている. さらに, 近年の分子生物学的研究の進歩により, Marfan 症候群など細胞外マトリックスの構造異常によると考えられてきた疾患であっても, 大動脈病変の進展には TGF $\beta$  シグナルの機能異常が関与していることが明らかとなり, 大動脈瘤・解離の病態の本質は,

細胞内シグナル伝達異常であるとも考えられるようになってきた. 同時に, シグナル制御による大動脈瘤の発生抑制という画期的な治療法が現実化するとともに, 治療戦略のうえでもパラダイムシフトを生じている.

### A. 大動脈疾患と遺伝

大動脈疾患の中でも特に臨床的に重要なのは大動脈瘤・解離である. 大動脈瘤の発症および進展には, 動脈硬化・炎症・遺伝的要因など様々な要因が関与しているが, 中でも, 若年発症の場合や, 胸部大動脈, 特に胸部上行大動脈に主病変があるものは, 老人発症あるいは腹部大動脈瘤・解離に比べて, 遺伝的背景が強いことが知られている.

胸部大動脈瘤では, Marfan 症候群, Loeys-Dietz 症候群・血管型 Ehlers-Danlos 症候群などの全身性結合組織異常に伴う症候群性のものが全体の 10% 弱を占めている.

一方, 非症候群性大動脈瘤の症例でも, 約 20% は家系内に複数の患者を認めることより, 遺伝的要因が発症に関与していると考えられている<sup>9)</sup>. これらの家族発症例の多くは常染色体優性

遺伝形式をとって発症するが、常染色体劣性遺伝形式をとる症例もある。これまでに、家系解析により同定された4カ所の原因遺伝子座のうち2カ所については原因遺伝子も同定され、その他にも、3つの原因遺伝子が同定されたが、これらの遺伝子異常によるものはすべて単一遺伝子の異常で大動脈瘤を発症する単一遺伝子疾患である。

その他、大動脈蛇行・大動脈縮窄などの大動脈異常でも遺伝的要因によるものがいくつか知られている。

## B. 症候群性大動脈疾患と原因遺伝子

### 1. Marfan症候群: *FBNI* 遺伝子

Marfan(マルファン)症候群(Marfan syndrome: MFS)は、*FBNI* 遺伝子の変異により発症し、多彩な表現型を呈する全身性遺伝性疾患である<sup>1)</sup>。病態の本質は、結合組織における細胞外マトリックスの一つ、microfibrilの主要な構成成分であるフィブリリン蛋白の質的あるいは量的異常により引き起こされる結合組織障害であり、特に骨格系(骨の過形成と関節の弛緩による、高身長、クモ状指、側弯、胸郭変形など)、心血管系(大動脈瘤、僧帽弁逸脱症など)、眼系(水晶体亜脱臼、近乱視、網膜剥離など)に特徴的な病変をきたす。発症頻度は、従来、人種性別を問わずほぼ1~2万人に1人とされてきたが、現在では、軽症例も含めれば5000人に1人程度であろうと推定されている。遺伝形式は常染色体優性遺伝で、両親いずれかが患者の場合、その子には性別に関係なく50%の確率で遺伝する。しかし患者の約25%には家族歴を認めず、その場合は新生突然変異により発症すると考えられている。診断は、1996年に設定されたGhent診断基準が長い間ゴールドスタンダードであったが<sup>10)</sup>、遺伝子診断技術の向上により次項で述べるLDSなどが新規疾患として認められるようになると、これらの疾患との鑑別

が現行基準では不十分となってきた。2010年には、診断基準の見直しがされ、大動脈拡張・水晶体亜脱臼・遺伝子変異の3点をより重視した新診断基準が提唱されている<sup>11)</sup>。

MFSの大動脈病変は、バルサルバ洞を含む上行大動脈の拡大で、特に大動脈基部の拡張が特徴的であるが、その他、胸部下行~腹部大動脈にも認められる。病理学的には、嚢胞性中膜壊死(cystic medial necrosis)とよばれる中膜平滑筋層の変性を認めるが、この病変は、MFS以外にも結合組織の異常による大動脈解離ではしばしば認められる所見であり、診断的意義は限定的である。

*FBNI* 遺伝子がコードしているフィブリリンは、細胞外基質の基本成分の一つであり、皮膚、肺、血管、骨、筋肉、腱など、全身の結合組織に広く存在し、細胞骨格の重要な成分であるほか、TGF $\beta$ シグナルの活性制御にも重要な働きをしていることが、最近の研究で明らかになっている。*FBNI* 遺伝子変異は、血液ゲノムを用いた通常の遺伝子解析でも臨床的に診断された患者の約70%以上で検出され、組織を用いた解析法を併用すると90%以上で検出される。*FBNI* 遺伝子変異による発症機序は、従来は、保存されたシステインが他のアミノ酸に置換(ミスセンス変異)し、正常蛋白質の機能を阻害する優性阻害効果(dominant negative effect)によるものが多いとされていた。しかし、最近の研究では、早期停止型変異による症例が約1/2から1/3にもものぼることがわかり<sup>12)</sup>、さらにこれらの変異では正常蛋白質の量が半減するハプロ不全効果で発症すると考えられることより、フィブリリンの量的減少による機能異常が病態を引き起こしていると予測され、実際にマウス実験にてこの仮説が証明された<sup>13)</sup>。この機能異常には、前述のTGF $\beta$ シグナル伝達系の関与が示唆されている。

## 2. Loews-Dietz症候群: TGF $\beta$ 受容体 (*TGFBR1/TGFBR2*) 遺伝子

Loews-Dietz(ロイス-ディーツ)症候群(Loews-Dietz syndrome: LDS)は、TGF  $\beta$  1型受容体(*TGFBR1*)または2型受容体(*TGFBR2*)遺伝子の変異により発症する全身性遺伝性結合織疾患として、2005年に、眼間解離・二分口蓋垂・動脈蛇行を三徴として提唱された新規の疾患である<sup>3)</sup>。臨床所見としては、その他に、側弯・内反足・クモ状指・頸椎異常・関節過可動・頭蓋骨早期癒合などの骨格系所見、大動脈基部拡張・大動脈瘤・解離などの心血管異常、血管型Ehlers-Danlos症候群(EDS)様の透過性皮膚所見を高頻度に認める<sup>14)</sup>。一部の症例ではMFSとの鑑別が難しいことは当初より指摘されており、従来MFS2型とよばれていた水晶体亜脱臼を伴わないMFS家系が、実は遺伝子解析により当疾患であったことが判明している<sup>15)</sup>。発症頻度は、現時点では不明であるが、MFSと診断された症例の約5~15%が、実はLDSであろうと推定されている。表現型はきわめて多様で、上記のようにMFS類似の骨格所見・特徴的顔貌が主病変である症例から、大動脈瘤・解離・動脈蛇行のみで血管外所見をほとんど認めない症例まである。しかし、ほぼ全例で若年発症の大動脈基部拡張を認めるのが特徴で、動脈病変が大動脈に限定されるMFSと異なり、脳動脈や腹腔内動脈などの中小サイズの血管にも動脈瘤形成を認める。また、20歳前に解離を発症するなどMFSに比べて血管症状の進行が早いため、早期の診断と管理がより重要である。

*TGFBR1/TGFBR2*遺伝子がコードしているTGF  $\beta$  1型受容体および2型受容体は、ともに細胞増殖・分化を制御しているサイトカインの一つであるTGF  $\beta$ の受容体であり、細胞膜上に存在し互いにヘテロマーを形成している。いずれもセリン・スレオニンキナーゼ活性を有しており、リガンドであるTGF  $\beta$ が両受容体に結合すること

により、まず2型受容体が1型受容体をリン酸化し、ついで1型受容体がシグナル伝達物質であるR-Smadをリン酸化、これによりSmad分子の核内への移行が起こり、最終的に下流の各種の遺伝子発現が制御されている。

これまでにLDS患者で同定された遺伝子変異は、*TGFBR1*遺伝子、*TGFBR2*遺伝子ともに機能喪失型の変異であり、変異の型からはシグナル伝達系の減弱が予測される。しかし、実際に変異を認めた患者の細胞や組織の解析では、むしろSmadのリン酸化や下流の遺伝子発現の亢進が認められた。その理由は不明であるが、LDSでもMFSにおけると同様にTGF  $\beta$ シグナル伝達系が亢進しているという事実は、大動脈瘤発症のメカニズムを考える上で大変興味深い。

## 3. 血管型Ehlers-Danlos症候群: *COL3A1* 遺伝子

Ehlers-Danlos(エーラス-ダンロス)症候群(Ehlers-Danlos syndrome: EDS)は、コラーゲンなど、結合組織成分の先天性代謝異常により、皮膚・関節・血管などの結合組織の脆弱性を認める遺伝性疾患の総称であり、主病変部位により古典型・関節過可動型・血管型・後側弯型・関節弛緩型・皮膚脆弱型に病型分類されている<sup>16)</sup>。病型により原因遺伝子も異なるが、これまでに同定された原因遺伝子は、コラーゲンの合成や成熟に関わるものがほとんどである。このうち、大動脈瘤・解離・破裂を伴うものとして注意すべき病型は、*COL3A1*遺伝子の変異による血管型Ehlers-Danlos症候群(旧分類: IV型)であり、全身血管および内臓組織の脆弱性を主病変とし、動脈破裂、腸管破裂、妊娠中の子宮破裂などの重篤な症状をきたす予後不良な疾患である。皮膚は、薄く透過性で、血管脆弱性に伴う易出血性を認めるが、他の病型でみられるような異常な皮膚伸展性は通常認めない。また、関節の過可動性は小関節に限

られるのも特徴である。その他、血気胸、筋・靭帯損傷、内反足、脳出血・梗塞などもしばしば認める。自然歴では、20歳までに1/4の患者が、40歳までに4/5の患者が何らかの明らかな医学的問題を経験するといわれている<sup>17)</sup>。発症頻度は、数万人に1人とされ、遺伝形式は常染色体優性である。高度の組織脆弱性と止血の困難さから、内視鏡、浣腸などの侵襲的検査や外科的手術はなるべく避けるのが基本であり、またカテーテル挿入部位で動脈破裂や解離を起こす可能性があるため、スクリーニングとしての血管造影は一般的に勧められない。そのためにも、家族歴や臨床所見から本疾患を疑った場合には、遺伝学的検査あるいは生化学的検査により早期に診断を確定することが患者管理においても重要とされる。

COL3A1 遺伝子がコードしている3型コラーゲンは、線維性コラーゲンであり、皮膚や内臓組織における細胞外マトリックスの主要成分である。3型コラーゲンの特徴は、通常のコラーゲン線維とは別に、細網線維とよばれる細い網目状の構造を形成し、細胞などの足場として組織の保持と強度を支える機能を有している点であり、特に創傷治癒過程の初期段階で重要な働きをしている。3型コラーゲン線維は、[Gly-X-Y]の繰り返し配列をもつ3本のアルファ鎖同士が螺旋状に絡み合ったトリプルヘリックス構造をとっているが、血管型 Ehlers-Danlos 症候群の患者の多くでは、このグリシン (Gly) が他のアミノ酸に置換しているか、あるいは一部が欠損しているために、トリプルヘリックス構造をとれず、結果として、細胞外に分泌される正常3型コラーゲンの量が極端に減少している。一方、検出された変異の数%は、フレームシフト変異や早期停止型変異により変異型コラーゲンが産生されず、結果として正常3型コラーゲンの量が半減するものであるが、この場合は、臨床症状が比較的軽症な場合があることがわかっている。

#### 4. 動脈蛇行症候群: SLC2A10 遺伝子

動脈蛇行症候群 arterial tortuosity syndrome (ATS) は、全身の動脈血管の伸張と蛇行および大中動脈の瘤形成を主徴とし、皮膚弛緩、弛緩性関節、特徴的顔貌などを伴う遺伝性結合組織疾患であり、グルコーストランスポーター 10 (GLUT10) の異常により発症する<sup>4)</sup>。動脈蛇行や身体的特徴が前述の LDS 類似する症例もあるが、LDS と異なり、大動脈解離に至ることはまずない。きわめて稀な疾患で、遺伝形式は常染色体劣性である。患者の変異が、遺伝子変異のヘテロ保因者である両親に由来する場合は、兄弟における再発危険率は 1/4 となる。

GLUT10 は、SLC2A10 遺伝子によりコードされる糖輸送体の1つで、肝・脂肪組織をはじめとして多くの組織で発現しており、血管平滑筋にも高い発現を認めるが、この遺伝子の機能喪失型の異常で動脈の変化が引き起こされる機序は不明である。しかし、ATS 患者の血管平滑筋においてもやはり TGF  $\beta$  シグナル伝達系の亢進が認められており、動脈における TGF  $\beta$  シグナル伝達系の重要性を示唆する証拠の1つになっている。

#### 5. ターナー症候群: X染色体異常

X染色体モノソミーあるいはX染色体短腕の部分欠失により発症し、女兒の2000~3000人に1人で認められる比較的頻度の高い染色体異常である。低身長、翼状頸、外反肘、原発性無月経、腎奇形など多彩な症状を呈するが、心血管系では、大動脈二尖弁 (10~25%)、大動脈縮窄 (8%) を高頻度で認める。ターナー症候群の最大40%で大動脈基部の拡張を認めるとされるが、大動脈解離の合併は1.4%程度と低く、解離発症例の多くは、大動脈二尖弁、大動脈縮窄、高血圧などの他の危険因子を有しているとされている。

## 6. その他の症候群

多発性嚢胞腎 (*PKD1, PKD2* 遺伝子) や、ヌーナン (Noonan) 症候群 (*PTPN11, KRAS, SOS1, RAF1* 遺伝子他), アラジール (Alagille) 症候群 (*JAG1, NOTCH2* 遺伝子), 皮膚弛緩症の一部 (*ELN, FBLN4* 遺伝子), 骨形成不全症 (*COL1A1, COL1A2* 遺伝子他), 変形性関節炎の一部 (aneurysms-osteoarthritis syndrome: AOS) (*SMAD3* 遺伝子) でも, 大動脈瘤・解離の合併の報告がある<sup>5)</sup>。遺伝形式は疾患により異なるが, 常染色体優性遺伝形式をとるものが多い。

## C. 非症候群性大動脈疾患と原因遺伝子

Marfan 症候群などの症候群性疾患によるものを除いた胸部大動脈瘤・解離患者でも約2割は家系内に複数の患者を認め, 遺伝的要因の関与が示唆されている。こうした家族性胸部大動脈瘤患者の家系解析により4カ所の原因遺伝子座が同定され<sup>18-21)</sup>。うち2カ所については前述の *TGFBR2* 遺伝子および *MYH11* 遺伝子 (平滑筋ミオシン重鎖をコードする) が原因遺伝子として同定されており<sup>7)</sup>。それ以外にも, *ACTA2* 遺伝子<sup>6)</sup> および *MYLK* 遺伝子<sup>8)</sup> (ミオシン軽鎖キナーゼをコードする) が原因遺伝子として同定されている。これらの遺伝子異常による大動脈瘤・解離は, 全て常染色体優性遺伝形式をとる単一遺伝子疾患であるが, このうち, 比較的頻度が高い *ACTA2* 遺伝子変異について次に述べる。

### ACTA2 遺伝子

*ACTA2* 遺伝子がコードしている平滑筋  $\alpha$  アクチン  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) は, 血管平滑筋細胞における主要な細胞骨格であり, 非症候群性家族性胸部大動脈瘤の約15%は, この遺伝子の変異により発症するという報告もある。本邦の解析でも, 50歳以下で発症した若年性非症

候群性家族性胸部大動脈瘤患者の約20%で同遺伝子の変異が同定されている<sup>22)</sup>。多くの症例では, 大動脈瘤あるいは解離が主症状であるが, 冠動脈疾患やもやもや病様の脳血管障害の合併が多いことも指摘されている<sup>23)</sup>。一部の特殊な変異例では, 網状皮斑や虹彩異常 (iris flocculi) を伴ったり (Arg149Cys変異), 脳内血管異常 (内頸動脈の近位部拡張と遠位部狭窄, 中大脳動脈の放射状分枝), 動脈管開存症, 縮瞳異常, 膀胱不全, 腸回転異常など多臓器にわたる平滑筋機能異常を伴う (Arg179His変異)<sup>24)</sup> ものがある。

## D. 遺伝性大動脈瘤と TGF- $\beta$ シグナル異常

最近の大動脈異常の分子遺伝学的研究において最も注目されているのは, 大動脈瘤発症における TGF  $\beta$  のシグナル伝達系の関与である。*FBN1* 異常による MFS, *TGFBRs* 異常による LDS, *SLC2A10* 異常による ATS, *SMAD3* 異常による AOS, のすべての疾患の患者平滑筋細胞において, TGF  $\beta$  のシグナル伝達系の亢進が認められており, 平滑筋細胞における TGF  $\beta$  シグナルの亢進が, これらの疾患における大動脈瘤発症の根底にあると提唱する学者もいる<sup>25)</sup>。また, マウス MFS モデルにアンジオテンシンII受容体拮抗薬の一つで TGF  $\beta$  作用の阻害作用があるといわれるロサルタンを投与したら血管病変を改善できたという報告もされた<sup>13)</sup>。現在, MFS に対するロサルタンの効果をヒト臨床試験により確認中である。「遺伝子そのものの異常は治せない」が, その下流のシグナル異常を制御することにより「遺伝子病の発症を防ぐ」ことが可能である, ことを示したという点で, 遺伝子病の治療を考える上でもその意味はきわめて大きく, 今後の進展が期待される。

## 文献

- 1) Dietz HC, Cutting GR, Pyeritz RE, et al. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature*. 1991; 352: 337-9.
- 2) Superti-Furga A, Gugler E, Gitzelmann R, et al. Ehlers-Danlos syndrome type IV: a multi-exon deletion in one of the two COL3A1 alleles affecting structure, stability, and processing of type III procollagen. *J Biol Chem*. 1988; 263: 6226-32.
- 3) Loeys BL, Chen J, Neptune ER, et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in *TGFBR1* or *TGFBR2*. *Nat Genet*. 2005; 37: 275-81.
- 4) Coucke PJ, Willaert A, Wessels MW, et al. Mutations in the facilitative glucose transporter *GLUT10* alter angiogenesis and cause arterial tortuosity syndrome. *Nat Genet*. 2006; 38: 452-7.
- 5) van de Laar IM, Oldenburg RA, Pals G, et al. Mutations in *SMAD3* cause a syndromic form of aortic aneurysms and dissections with early-onset osteoarthritis. *Nat Genet*. 2011; 43: 121-6.
- 6) Guo DC, Pannu H, Tran-Fadulu V, et al. Mutations in smooth muscle alpha-actin (*ACTA2*) lead to thoracic aortic aneurysms and dissections. *Nat Genet*. 2007; 39: 1488-93.
- 7) Zhu L, Vranckx R, Van Kien PK, et al. Mutations in myosin heavy chain 11 cause a syndrome associating thoracic aortic aneurysm/aortic dissection and patent ductus arteriosus. *Nat Genet*. 2006; 38: 343-9.
- 8) Wang L, Guo DC, Cao J, et al. Mutations in myosin light chain kinase cause familial aortic dissections. *Am J Hum Genet*. 2010; 87: 701-7.
- 9) Albornoz G, Coady MA, Roberts M, et al. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections—incidence, modes of inheritance, and phenotypic patterns. *Ann Thorac Surg*. 2006; 82: 1400-5.
- 10) De Paepe A, Devcreux RB, Dietz HC, et al. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. *Am J Med Genet*. 1996; 62: 417-26.
- 11) Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet*. 2010; 47: 476-85.
- 12) Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, et al. Effect of mutation type and location on clinical outcome in 1,013 probands with Marfan syndrome or related phenotypes and *FBN1* mutations: an international study. *Am J Hum Genet*. 2007; 81: 454-66.
- 13) Habashi JP, Judge DP, Holm TM, et al. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. *Science*. 2006; 312: 117-21.
- 14) Loeys BL, Schwarze U, Holm T, et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *N Engl J Med*. 2006; 355: 788-98.
- 15) Mizuguchi T, Collod-Beroud G, Akiyama T, et al. Heterozygous *TGFBR2* mutations in Marfan syndrome. *Nat Genet*. 2004; 36: 855-60.
- 16) Beighton P, De Paepe A, Steinmann B, et al. Ehlers-Danlos syndromes: revised nosology, Villefranche, 1997. Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK). *Am J Med Genet*. 1998; 77: 31-7.
- 17) Germain DP. Ehlers-Danlos syndrome type IV. *Orphanet J Rare Dis*. 2007; 2: 32.
- 18) Vaughan CJ, Casey M, He J, et al. Identification of a chromosome 11q23.2-q24 locus for familial aortic aneurysm disease, a genetically heterogeneous disorder. *Circulation*. 2001; 103: 2469-75.
- 19) Guo D, Hasham S, Kuang SQ, et al. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections: genetic heterogeneity with a major locus mapping to 5q13-14. *Circulation*. 2001; 103: 2461-8.
- 20) Hasham SN, Willing MC, Guo DC, et al. Mapping a locus for familial thoracic aortic aneurysms and dissections (TAAD2) to 3p24-25. *Circulation*. 2003; 107: 3184-90.
- 21) Khau Van Kien P, Mathieu F, Zhu L, et al. Mapping of familial thoracic aortic aneurysm/dissection with patent ductus arteriosus to 16p12.2-p13.13. *Circulation*. 2005; 112: 200-6.
- 22) Morisaki H, Akutsu K, Ogino H, et al. Mutation of *ACTA2* gene as an important cause of familial and nonfamilial nonsyndromic thoracic aortic aneurysm and/or dissection (TAAD). *Hum Mutat*. 2009; 7: 7.
- 23) Guo DC, Papke CL, Tran-Fadulu V, et al.

- Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) cause coronary artery disease, stroke, and Moyamoya disease, along with thoracic aortic disease. *Am J Hum Genet.* 2009; 84: 617-27.
- 24) Milewicz DM, Ostergaard JR, Ala-Kokko I.M, et al. De novo ACTA2 mutation causes a novel syndrome of multisystemic smooth muscle dysfunction. *Am J Med Genet.* 2010; 152A: 2437-43.
- 25) Dietz HC, Loeys B, Carta L, et al. Recent progress towards a molecular understanding of Marfan syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2005; 139: 4-9.

## 歯周組織における自然免疫

歯周炎の病態は文字どおり千差万別である。プラークの付着量と組織破壊の程度は必ずしも相関していない。プラーク細菌が多量に付着しているにもかかわらず歯周組織の破壊が少ないケースもあれば、プラーク量が比較的少ないにもかかわらず、歯周組織破壊が高度に進行したケースに遭遇することもしばしばである。これまでのノックアウトマウスを用いた歯周病原細菌感染実験から、歯周組織破壊にはさまざまなサイトカインやリンパ球を主体とする細胞がかかわっていることが明らかになってきた。このことは、とりもなおさず宿主の免疫応答が組織破壊と密接に結びついていることを示している。

免疫応答には自然免疫 (innate immunity) と適応免疫 (adaptive immunity) の2種類があり、相互に制御し合

いながら感染に対する防御機能を担っている。自然免疫は感染が生じる前からすでに準備されており、感染が起こった場合にはすばやく応答することができる。物理的・化学的バリアと血液タンパク、細胞成分 (貪食細胞) から構成される。繰り返される感染に対しても基本的には同じ方法で応答し、その作用の程度が変化することはない。一方、適応免疫は繰り返される感染に対して、特定の病原微生物に対する応答が強くなる、すなわち免疫学的記憶という機構が存在する。また、微生物のみならず金属など非微生物に対しても応答することができる。さまざまなアレルギー反応を媒介するのは適応免疫系である。適応免疫を構成するのは主としてリンパ球とその産物である。自然免疫と適応免疫の特徴を表1に示す。

表1 自然免疫と適応免疫の特徴。

	自然免疫	適応免疫
<b>特徴</b>		
特異性	低い	高い
多様性	低い	きわめて大きい、体細胞遺伝子組み換えにより生成
記憶	なし	あり
寛容 (自己非応答性)	あり	あり
<b>構成要素</b>		
物理・化学的バリア	上皮、抗菌物質	
血液タンパク質	補体	抗体
細胞成分	貪食細胞 (好中球, マクロファージ) NK細胞	リンパ球

## (1) 物理・化学的バリア<sup>1</sup>

歯周組織における物理的バリアは、言うまでもなく歯周組織の最表層を構成する歯肉である。歯肉軟組織と石灰化組織である歯との間は、接合上皮と呼ばれる特殊な上皮で付着を形成している。接合上皮より生じている上皮付着は、内側基底板とヘミデスマソームより構成される。接合上皮における細胞のターンオーバーは口腔上皮(6~12日)と比較して非常に早い(4~6日)。接合上皮は歯肉溝の底部をなし歯肉溝滲出液(gingival crevicular fluid : GCF)が流出している。口腔粘膜表面を覆う唾液、およびGCFにはリゾチーム、ラクトフェリン、補体が含まれ、抗菌活性を担っている。

### ①リゾチーム

涙、唾液、GCFなどの体液に見られる酵素であり、多くの細菌の細胞壁の骨組みである糖タンパクを分解し、効果的に細菌を破壊する。

### ②ラクトフェリン

ヒトの乳汁、精液、唾液ならびに胃液に含まれる鉄イ

オンを含んだ物質である。ある種の細菌は増殖に鉄イオンを必要とするが、ラクトフェリンが遊離の鉄イオンと結合することにより抗菌効果を発揮する。たとえば *Porphyromonas gingivalis* は鉄イオンの存在下で増殖すると、より強い病原性を発揮することが知られているが、ラクトフェリンはこの菌の病原性を低く抑えるはたらきをもつ。

### ③補体

約20種類の血清タンパクからなるシステムで、それらは連続的に活性化される。これは主要な液性効果システムであり、最終的に急性炎症反応を伝達して侵入した細菌を除去する。連続的に活性化されるので、生物学的に活性をもったペプチドがさまざまなステージで生成される。これらの活性物質は1)肥満細胞からのヒスタミン遊離を促進し、血管透過性を高め浮腫を形成する。2)活性化の生じている部位に貪食細胞を引き寄せ一これを化学走性(走化性)と呼ぶ。3)貪食を促進し、4)細菌細胞の融解を引き起こす。

## (2) 細胞成分<sup>2</sup>

細胞成分としては多形核白血球、上皮細胞、マクロファージ、NK細胞が挙げられる。

### ①多形核白血球

白血球の中でもっとも多数を占める。これは終末細胞で、もはや増殖能を有さず生存期間も短い。1分間に  $8 \times 10^7$  個の多形核白血球が産生され血中で6~7時間過ごし、2日ほどでその一生を終える。GCF中の細胞成分の約90%を占める。全身的な多形核白血球の数や機能の低下を示す疾患、たとえば周期性好中球減少症、白血球粘着不全症候群では重篤な歯周炎に罹患することが知られており、防御機能において重要なはたらきをしていることがわかる。多形核白血球は後述するようにディフェンシン、カルプロテクチン、カテリシジンLL-37などの抗菌性ペプチドを産生する。

### ②マクロファージ

骨髄に由来し、単核の貪食細胞である単球が組織内で成熟した細胞がマクロファージである。長命の細胞で数

か月から数年の間生存する。ほとんどすべての組織で組織球として、あるいは肺における肺マクロファージ、肝臓におけるクッパー細胞、腎におけるメサングウム細胞、脳におけるミクログリア細胞、あるいは破骨細胞のように特殊な細胞として見られる。単球は血中から遊走し、組織マクロファージになり、リンパ球とともに慢性炎症における単核細胞浸潤の一部をなす。歯周組織においてマクロファージは多形核白血球同様、貪食作用を示すとともに抗原提示細胞としての機能を担っている。また、活性化マクロファージは種々のサイトカインを産生する。

### ③上皮細胞

上皮細胞は物理的バリアとしての機能に加え、病原微生物を認識して抗菌性ペプチドやサイトカイン、ケモカインを産生する。

### ④ナチュラルキラー細胞(NK細胞)

NK細胞の主要な生理的役割は、ウイルスおよびいく

つかの細胞内寄生細菌が感染した細胞を破壊することである。歯周病原細菌のあるものは細胞内に侵入する能力をもつが、細胞内での病原性は不明である。また、歯周炎の病因としてヘルペスウイルスの関与が報告されてい

るが、詳細は明らかになっていない。このように、歯周炎におけるNK細胞の機能は不明であるが、歯周炎の局所でその数が増加していることが報告されている<sup>3</sup>。

### (3) 抗菌性ペプチド

#### ①カルプロテクチン

好中球の細胞質ソルの主要タンパクで、広い抗菌スペクトラムをもつ。2つのペプチド複合体からなるカルシウム結合タンパクである。好中球のほか、単球・マクロ

ファージや上皮細胞でも発現することが知られている。CHAPTER IIに記載されているディフェンシンやカテリシジンLL-37も上皮バリアを守る自然免疫に貢献している。

### (4) 自然免疫におけるToll様受容体の役割<sup>4</sup>

自然免疫系の細胞に発現する主要な抗原認識受容体はToll様受容体(Toll-like receptor: TLR)ファミリーである。TLRはさまざまな細菌・ウイルスあるいは自己成分の認識に関与し、細胞の活性化を誘導する(表2)。細菌の攻撃に遭うと、自然免疫にかかわる細胞が活性化されるだけでなく、サイトカインや補助刺激分子の誘導が起こり、適応免疫系のはたらきを誘導する。こうして

活性化されたT細胞はサイトカインを産生してマクロファージを活性化し、またB細胞の分化を誘導することにより抗体産生を促進する(後項「適応免疫」参照)。

自然免疫と適応免疫の活性化に必須の役割を果たすTLRは細胞内のさまざまなアダプター分子を介して細菌抗原の刺激を伝達し、主としてnuclear factor- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)と呼ばれる転写因子の活性化を誘導し、炎

表2 自然免疫系の細胞に発現する主要な抗原認識受容体(Toll様受容体)。

受容体	リガンド	歯周組織での発現細胞
TLR1	Triacyl lipopeptides	好中球, ランゲルハンス細胞, 樹状細胞, 血管内皮細胞, 骨芽細胞
TLR2	細菌由来リポ蛋白, リポペプチド ペプチドグリカン Zymosan (Yeast 由来) Fimbriae ( <i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来) LPS (Some bacterial species)	上皮細胞, 線維芽細胞, 好中球, マクロファージ, ランゲルハンス細胞, 樹状細胞, 歯根膜細胞, セメント芽細胞, 破骨細胞
TLR3	Poly (I:C), dsRNA (2本鎖 RNA ウイルス)	上皮細胞, 線維芽細胞, ランゲルハンス細胞, 樹状細胞, 血管内皮細胞
TLR4	リポ多糖 (Lipopolysaccharide: LPS)	上皮細胞, 線維芽細胞, 好中球, マクロファージ, ランゲルハンス細胞, 樹状細胞, 歯根膜細胞, セメント芽細胞, 骨芽細胞, 破骨細胞
TLR5	Flagellin (鞭毛タンパク)	上皮細胞, 線維芽細胞, 好中球, マクロファージ, ランゲルハンス細胞, 樹状細胞
TLR7/TLR8	ssRNA (一本鎖 RNA ウイルス)	ランゲルハンス細胞, 樹状細胞, 破骨細胞
TLR9	CpG DNA (細菌・ウイルス由来 2本鎖 DNA)	上皮細胞, 好中球, 骨芽細胞, 破骨細胞
NOD1	IE-DAP: $\gamma$ -D-Glu-meso-DAP (ペプチドグリカンの部分構造)	上皮細胞
NOD2	MDP: Muramyl dipeptide (ペプチドグリカンの部分構造)	上皮細胞

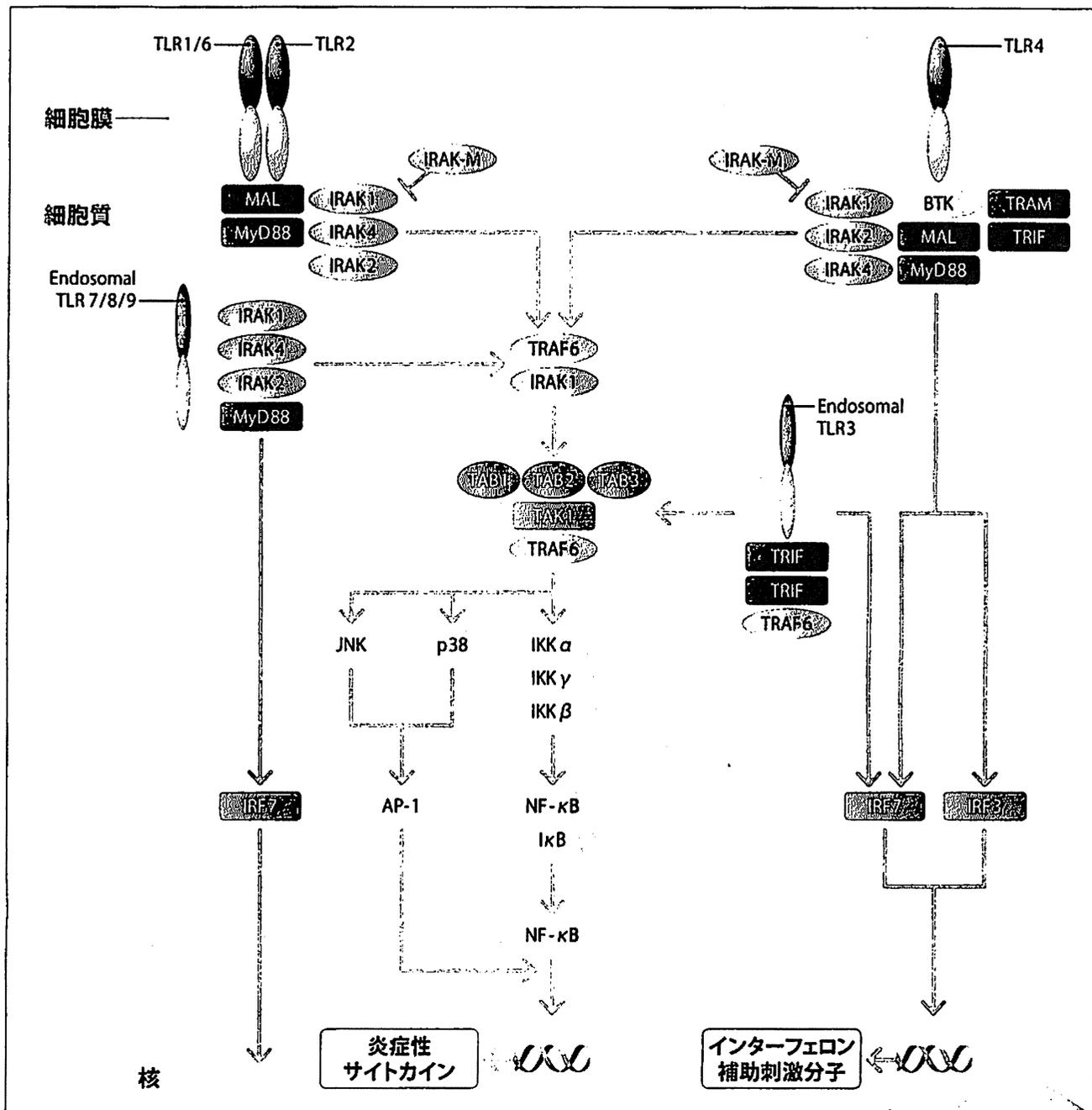


図1 TLRシグナリング。

病原体の分子パターンは種々のTLRで認識される。炎症性サイトカイン産生や、インターフェロン産生を誘導し、細菌・ウイルス感染に対する防御機能を担う。

炎症性サイトカインの産生を亢進する。一方、ウイルス抗原刺激の場合には、interferon regulatory factor(IRF)と呼ばれる転写因子の活性化によりインターフェロン(interferon: IFN)の産生が誘導される(図1)。短期的な細菌刺激は自然免疫・適応免疫の活性化により細菌の排除に有効にはたらくが、歯周炎で見られるような慢性的な感染は炎症性サイトカインの持続的な産生を引き起

こし、マクロファージ、線維芽細胞においてコラゲナーゼ、プロスタグランジンE<sub>2</sub>(prostaglandin E<sub>2</sub>: PGE<sub>2</sub>)の産生、破骨細胞の活性化を誘導して炎症性組織破壊に関与する。歯周炎組織では種々のTLR分子発現が亢進していることから、持続的な抗原刺激が加わっていることが明らかになっている<sup>5</sup>。

## 歯周組織における適応免疫

適応免疫系を構成する細胞は抗原提示細胞とリンパ球である。適応免疫の開始と進行には抗原が補足され、処理された後に特異的なリンパ球に提示されることを必要とする。この役割を担うのが抗原提示細胞と呼ばれる細胞である。抗原提示細胞は微生物抗原とその他の抗原を補足し、それらをリンパ球に提示し、リンパ球の増殖と分化を促進するシグナルを提供する専門化された細胞集団である。リンパ球はTリンパ球(T細胞)とBリンパ球(B細胞)に分類され、T細胞は細胞性免疫応答、B

細胞は液性免疫応答を司る。

歯肉炎・歯周炎いずれの組織においても浸潤細胞の主体はリンパ球である。T細胞は機能的に異なったポピュレーションから構成され、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、制御性T細胞に大きく分類されている。B細胞は抗体を産生できる唯一の細胞である。抗原を認識して形質細胞と呼ばれる抗体産生細胞に分化し、液性免疫のメディエーターとして機能する。これらすべての細胞が炎症歯周組織で見られる。

### (1) 抗原提示細胞<sup>6</sup>

T細胞応答の開始に関与する主要な抗原提示細胞は樹状細胞(dendritic cells: DC)である。マクロファージは細胞性免疫応答においてT細胞に対する抗原提示細胞として機能し、B細胞は液性免疫応答においてT細胞に対する抗原提示細胞として機能する。

#### ① 樹状細胞

歯肉組織には2つのDC亜集団、すなわちランゲルハンス細胞と表皮DCが存在することが報告されている。ランゲルハンス細胞はブラク細菌の蓄積に対して強く反応し、初期歯肉炎で歯肉上皮に遊走してくる。炎症の慢性化にともなって歯肉上皮から離れていく。一方、表皮DCは慢性歯周炎において固有層に浸潤してくる。

### (2) ヘルパーT細胞<sup>7</sup>

活性化されたヘルパーT細胞は産生するサイトカインのプロフィールによってTh1、Th2、Th17に分類される。過去20年以上にわたって、もっともよく解析されているのがTh1およびTh2細胞のサブセットである。一般的にTh1はマクロファージ活性化を誘導し、細胞性免疫応答を活性化すると同時に炎症反応を亢進させる。一方、Th2は液性免疫応答を活性化すると同時に炎症反応に対して抑制的である。

歯肉炎組織は代表的なTh1応答である皮膚の遅延型過敏反応(delayed-type hypersensitivity: DTH)ときわめて類似した組織像、すなわち血管周囲へのリンパ球(主としてT細胞)/マクロファージの浸潤で特徴づけ

られる。それらT細胞のCD4:CD8比はおおよそ2:1を示し、マクロファージは高い貪食活性を示すタイプであることが知られている。また、抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞や樹状細胞が増加している。これらの所見は以下のことを示唆する。歯肉炎では組織に侵入した抗原を抗原提示細胞が捉え、所属リンパ組織へ移動し、そこで抗原特異的T細胞が感作される。感作されたT細胞は抗原が侵入した部位、つまり歯肉組織に移動すると、抗原提示細胞によりさらなる活性化を受け、マクロファージとともに抗原の排除を行ってブラク細菌に対する組織のバランスを保っている。DTHは12~24時間で発現し、48時間以内にピークを迎え、1週間以

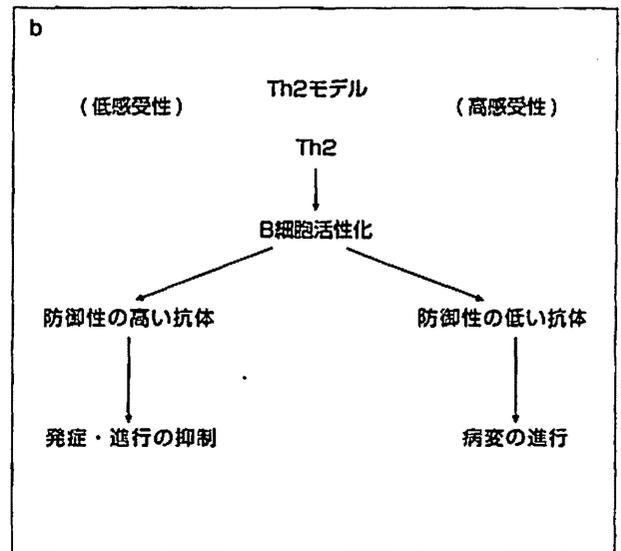
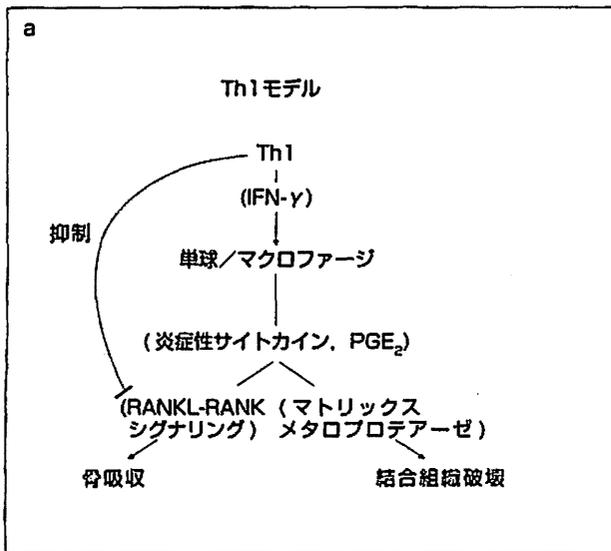


図 2a、b 歯周組織破壊における Th1、Th2 モデル。

内に消退する。したがって、歯肉炎病変はよく制御された免疫応答の表現型であるが、プラーク細菌の持続的刺激を受けるため、病変が消退しないと考えられる<sup>8</sup>。

ラットを用いた歯周病原細菌感染や、ノックアウトマウスでの実験的歯周炎モデルの解析では、明らかに Th1 サブセットが歯槽骨破壊に関連することが示されている。一例がラットにおける *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 特異的 Th1 サブセット移入実験である。ラットを *A. actinomycetemcomitans* で免疫すると特異的 T 細胞がラットの体内に増加する。これらの T 細胞から Th1 タイプのみを分離し、別のラットの血中に入れると同時に *A. actinomycetemcomitans* を口腔から感染させると、骨吸収の促進を誘導できることが報告されている。また、マウス *P. gingivalis* 経口感染モデルでは CD4 陽性 T 細胞欠損、IFN- $\gamma$  および IL-6 遺伝子欠損により、野生型マウスと比較して歯槽骨吸収が有意に抑制されることも報告されている<sup>9</sup>。

一方、ヒト歯周炎組織の解析では Th1/Th2 パラダイムについて相反する仮説が提示されてきた。Th1 が優勢であるとする仮説は Th1 が産生する IFN- $\gamma$  がマクロファージを活性化し、その結果産生される炎症性サイトカインや PGE<sub>2</sub> が結合組織破壊と歯槽骨の吸収を誘導する作用があることに基づく。歯周炎組織では IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインの発現が mRNA レベルで確認されているとともに GCF 中の炎症性サイトカイン・PGE<sub>2</sub> レベルの上昇も報告されている。Th2 が

優勢であるとする仮説の根拠は Th2 サイトカインにより抗原特異的 B 細胞（この場合、歯周病原細菌に対して作用する抗体を産生する）だけでなく、歯周病原細菌に無関係なさまざまな抗原に対する抗体を産生する B 細胞の活性（多クローン性 B 細胞活性化）が生じるため、感染防御に関与しない抗体産生が亢進すること、および B 細胞による持続的な IL-1 $\beta$  の産生が組織破壊と関連するものである（図 2a、b）。いずれの仮説にもそれぞれ矛盾する結果も示されている。前者に対しては高度な組織破壊を示す歯周炎組織に浸潤しているマクロファージの数は歯肉炎組織のそれと比較して有意な増加もなく、また活性化の程度も弱いことが示されている。さらに IFN- $\gamma$  は receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL)-RANK シグナリング経路を阻害することで破骨細胞の活性化を抑制することから、歯槽骨吸収に対しては防御的に作用している可能性もある。加えて抗炎症性サイトカイン transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 、IL-10 も歯周炎組織で上昇していることが報告されている。Th2 モデルでは *in vivo* における B 細胞からの IL-1 $\beta$  産生についての実証が乏しく、歯肉中の T 細胞による IL-2 と IL-4 産生に関してはいくつかの矛盾する報告がある。しかしながら多くの研究は、歯周炎組織においては Th2 が優勢であるとする説を支持している。さらに、歯周炎組織中にはコラーゲンや熱ショックタンパク 60 (heat-shock protein 60 : HSP60) などの自己成分を認識する T 細胞が集積しており、自己反応性の

応答が生じていることを示している。歯周炎患者血清中にはこれらの抗原に対する抗体も検出されることから、Th2 応答が優勢になっていることを示唆する。Th2 応答による組織破壊のメカニズムはさらなる解析が必要

であるが、以下に述べるように、歯周炎組織中では歯肉炎と比較して免疫抑制機能をもった T 細胞集団の比率が高く、このことは自己反応性 T 細胞が破壊に関与することを示唆する<sup>10</sup>。

### (3) Th17

多くの仮説が新たな発見によって修正されてきたように、Th1/Th2 で説明のつかない実験結果が報告され、新しい機能的 T 細胞サブセットの存在が明らかになった。遅延型過敏反応により誘導され、典型的な Th1-mediated な疾患と考えられていたマウス実験的自己免疫性脳脊髄炎において IFN- $\gamma$  の過剰発現、ノックダウンはそれぞれ病気の悪化、緩解を誘導すると予想されたが、まったく逆の結果を示し、最終的に IL-17 を産生する Th17 の活性化が主要な病因であることが明らかになった<sup>11</sup>。

IL-17 には A から F の 6 つのサブファミリーが存在する。これまで IL-17 と呼ばれてきた IL-17A は主にメモリー T 細胞により産生され、種々の標的細胞に作用して炎症性サイトカイン、ケモカイン、PGE<sub>2</sub> の産生を誘導する。また、RANKL 発現の増強を通じて、破骨細胞を活性化し炎症性骨破壊も引き起こす。加えて、歯周炎組織に浸潤する T 細胞の大部分がメモリー T 細胞で

あることを考えると、Th17 は歯周炎の病態にも関連すると考えても不思議はない。IL-17 と歯周疾患の関連についての最初の報告では、歯肉炎と歯周炎で IL-17 遺伝子発現には差を認めなかったものの、患者末梢血を *P.gingivalis* の外膜タンパクで刺激した際の遺伝子発現の上昇は歯周炎患者で高いことが明らかになった。その後、歯周炎組織中および歯周炎罹患歯の GCF 中で IL-17 の濃度が上昇していること、IL-17 産生細胞数も歯周炎でコントロールと比較して高いことが相次いで報告された。また、歯周炎組織から樹立した T 細胞クローンの解析から IL-17 遺伝子を発現する T 細胞クローンの頻度が同一患者の末梢血と比較して高いことも示されている。これらのことは IL-17 が歯周組織破壊に関与していることを示している。しかしながら、IL-17 ノックアウトマウスでの実験的歯周炎モデルでは逆に歯槽骨吸収が促進されていることから、歯周炎の病態へのかかわりを解明するためにはさらなる解析が必要である<sup>12</sup>。

### (4) 細胞傷害性 T 細胞

NK 細胞以外の CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T-cell : Tc) に関する報告は少ない。初期の研究では歯周炎患者末梢血中の CD4 : CD8 比はほぼ 2 : 1 になっているが、組織中では CD8 が増加していると報告された。しかし、逆に CD4 優勢という報告もある。局所に浸潤している CD8 陽性 T 細胞は比較的限定した受容体を発現していることから、特異的応答が生じていると考えられるが、特異的抗原に関する報告はない。Tc はヘルパー T 細胞と同様、サイトカイン産生のプロファイルにより Tc1 と Tc2 に分類されている。歯周炎組織における CD8 陽性細胞では IL-4 陽性の比率が高いことから、Tc2 の機能が優勢になっていることが示唆されている<sup>13</sup>。

細胞傷害活性は perforin/granzyme というタンパク

質、あるいは Fas/Fas ligand という細胞表面分子による活性化経路により発揮される。perforin(パーフォリン)は標的細胞の細胞膜に孔をあけ、そこから侵入した granzyme(グランザイム)が最終的にアポトーシスと呼ばれる細胞死を誘導する。Fas/Fas ligand 系による細胞傷害活性は、標的細胞の細胞膜上に発現する Fas に細胞傷害性 T 細胞の細胞膜上にある Fas ligand が結合すると標的細胞内で一連の反応が進行し、最終的にアポトーシスを誘導する。しかし、これらのメディエーターが歯周組織破壊に直接関与しているというデータはないことから、CD8 細胞はサイトカイン産生を通じて歯周組織における免疫応答の制御にかかわっていると考えられる。

## (5) 制御性T細胞

末梢性の寛容に関与する制御性T細胞にはいくつかの亜集団が存在するが(表3)、現在もっとも注目されているのが naturally occurring regulatory T cell(Treg) と呼ばれる胸腺で成熟する制御性T細胞である。このサブセットはCD25 強陽性で転写因子 FOXP3 を発現する。FOXP3 はマウスにおける Treg のマーカー分子であるが、ヒトではまだ一定の見解が得られていない。末梢血中で5%前後を占めるこのサブセットを除去すると、マウスにおいてヒトの自己免疫疾患と類似した病態を示すことから、自己の成分を認識して免疫応答を誘導する自己反応性T細胞の機能を抑制していることが明らかにされた。他の制御性T細胞による免疫抑制のメカニズムは抑制性のサイトカインである IL-10、TGF- $\beta$ 、抑制性のシグナルを伝達する cytotoxic T-lymphocyte antigen (CTLA)-4 によることがわかっているが、Treg においてはその他の細胞間接触を介した抑制と考えられている。歯周炎組織における Treg の分布を免疫組織学的に解析した結果によれば、B細胞浸潤の強い部位においてこの細胞の比率が高くなっており、T細胞優性の部位では低いことが明らかになった<sup>14</sup>。その後、歯周炎組織から樹立した CD4<sup>+</sup>T細胞クローンにおいては FOXP3 mRNA の発現率が高いことも明らかになっ

ている。歯肉由来の CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>T細胞クローンは末梢血より分離した CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>T細胞と異なり、免疫抑制能を示さないことが報告された。免疫組織化学的解析では FOXP3 陽性細胞のほとんどは CD4 陽性で、かつ CD25 陽性であったことから、これらの細胞集団の少なくとも一部は effector T cell と考えられ、FOXP3<sup>+</sup>細胞の大部分は活性化にともなって発現誘導されたものと考えられる<sup>15</sup>。これとは対照的に Ernstらは FOXP3 あるいは CD25 のいずれかが陽性のT細胞数は歯周炎組織と健常の組織で違わないにもかかわらず、CD25 陽性細胞に占める FOXP3 陽性細胞は健康歯肉組織で 80% 近くを占めたが、歯周炎組織ではほとんど見られなかったことを報告した<sup>16</sup>。制御性T細胞とは逆に、破骨細胞の分化に必須の分子である RANKL を発現するT細胞は歯周炎で高い比率を示したことから、歯周炎組織における制御性T細胞の減少が歯槽骨破壊と関連することが示唆される。したがって、健康歯肉や安定な病変と考えられる歯肉炎では、自己反応性あるいは組織破壊的な免疫応答を Treg が抑制しているのか、また、歯周炎では Treg の制御能を上回る応答が生じているのかについてはさらなる検討が必要である。

表3 末梢性の寛容に関与する制御性T細胞。

	制御性T細胞亜集団		
	Treg	Tr1	Th3
マーカー分子発現			
CD25	++	+	+
CTLA-4	+++	+	++
FOXP3	++	-	-
サイトカイン産生			
IL-10	+/-	++++	+/-
TGF- $\beta$	+(マウス)	++	++++
IL-4	-	-	+/-
抑制メカニズム			
<i>in vitro</i>	細胞間接触	IL-10,TGF- $\beta$	TGF- $\beta$
<i>in vivo</i>	細胞間接触	IL-10,TGF- $\beta$	TGF- $\beta$

## (6) ナチュラルキラーT細胞(NKT細胞)

制御性T細胞以外の免疫調節機能をもつと考えられるユニークなT細胞集団についての解析も進んでいる。NK細胞のマーカーと、多様性のきわめて少ないT細胞受容体 (invariant TCR) を発現するこの細胞集団はNKT細胞と名づけられた。T細胞は遺伝子再構成という仕組みを使って、遺伝子の数をはるかに超える多様な抗原の認識を可能にしているが、NKT細胞にはこの仕組みが存在しない。ヒトでは invariant V $\alpha$  24J $\alpha$  Q、マウスでは V $\alpha$  14J $\alpha$  281 NK 1.1 をそれぞれ発現するT細胞を指す。タンパク抗原を認識する通常のT細胞とは異なり、CD1dで提示される細菌・生体由来の糖脂質抗原を認識する(次頁「抗原認識」参照)。NKT細胞は *in vivo* で重要なはたらきをしている。NKT細胞の欠損はNODマウスのみならず、ヒトにおいても1型糖尿病に対する感受性を高めるばかりでなく、マウス、ヒトのさまざまな自己免疫疾患に関連することから、

自己免疫応答の制御にはたらいっていることが明らかになってきた。歯周炎病変と歯肉炎病変でヒトのNKT細胞と考えられる invariant V $\alpha$  24J $\alpha$  Q TCR をもつT細胞の比率を比較すると、末梢血ではいずれの患者群でも低く、健常者との違いは認められなかったが、歯肉炎組織では末梢血と比較して有意に高く、歯周炎組織ではさらに高いことが報告されている<sup>17</sup>。NKT細胞が活性化されると細胞傷害活性を生じ、同時にIL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-10、TGF- $\beta$  などCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>制御性T細胞と同様のサイトカインを産生する。さらに、NKT細胞がCD1d依存性に強力なB細胞活性化能を有することが報告された<sup>18</sup>。これが外来性の糖脂質抗原に対する抗体産生の増強にはたらいっているのか、CD1dと結合した内因性のリガンドを認識してB細胞活性化がかかわっているのかは明らかになっていない。

## 適応免疫における抗原認識

### (1) T細胞

T細胞の抗原認識は、大きくタンパク性の抗原と脂質抗原に大別できる(図3)。タンパク抗原はペプチドの形で認識される。抗原提示細胞上の主要組織適合遺伝子複合体(major histocompatibility complex : MHC)分子と呼ばれる細胞膜上の分子にペプチドを結合させてT細胞に提示する。貪食されて分解された細菌タンパクはMHC class IIに、ウイルス由来タンパクやがん細胞のタンパクはMHC class Iによってそれぞれ提示され、T細胞上のTCRによって認識される。同時にMHC class I分子とMHC class II分子はT細胞上のそれぞれCD8およびCD4分子と結合する。成熟したT細胞のほとんどはCD4、CD8のどちらか一方を発現する。CD4陽性T細胞は一般に細胞性免疫応答や体液性免疫応答を亢進することからヘルパーT細胞と呼ばれ、CD8陽性T細胞はそれらの抑制や細胞傷害に関与することから抑制性/細胞傷害性T細胞と呼ばれる。一方、細胞膜成分(細菌、生体細胞いずれも)である脂質抗原はMHC class Iに類似したCD1と呼ばれる分子により提示され、やはりT細胞上のTCRにより認識される。ヒトCD1にはa、b、c、dの4種類があり、それぞれ結合する脂質抗原に特徴がある。病原体由来あるいは感染の結果発現が亢進した宿主由来の脂質抗原に対する免疫応答は、炎症の制御に重要なはたらきをしていることが明らかになってきた。

歯周ポケット内には数百種類の細菌が存在し、個々の細菌はさまざまな抗原分子をもっていることから、そこで生じる免疫応答は非常に多様であると考えられる。しかしT細胞が認識する抗原のレパートリーを解析した研究によれば、想定される抗原の種類と比較してT細胞のレパートリーはきわめて限定されたものであり、関節リウマチや多発性硬化症といった典型的な自己免疫疾患の病変部に浸潤するT細胞のそれと変わらないことが報告された。このことは多種多様な細菌間で共通あるいは類似した抗原に対する応答が生じているか、細菌とわれわれ宿主の細胞で相同性の高い分子が標的抗原になっている可能性を示唆するものであった。こうした条件に適応する抗原の一つに前述(1-2(2)p.236)のHSP60がある。HSP60は原核生物から真核生物まで進化の過程において非常に良く保存された分子シャペロンで、熱、微生物感染、サイトカインなどで発現上昇する。その一方で高い免疫原性をもつタンパクである。歯周炎患者の末梢血中にはHSP60およびその相同分子である*P.gingivalis* GroELに特異的に応答するT細胞が存在し、それらの一部は両者に応答する(交叉反応性)性質を示す。さらに、それらのT細胞は歯周炎組織中に浸潤していることが報告されている<sup>19</sup>。HSP60特異的T細胞はIFN- $\gamma$ 産生性のTh1フェノタイプを示したことから炎症性組織破壊に関与していることが推測される。

### (2) B細胞・抗体

歯周炎病変部の浸潤細胞に占めるB細胞の割合は約70%に達し、そのうちの60%が形質細胞である。ほとんどのB細胞が受容体分子としてIgGを発現し、IgAやIgMは少ない。IgGのなかでもIgG1がもっとも優勢であり、それ以外は少数である。

歯周炎局所で産生されるのは主として歯周病原細菌のタンパク抗原および多糖抗原に対するIgGであるが、歯周病原細菌抗原のものばかりではなく、口腔以外の細菌抗原に対するものも検出される。これは歯周病原細菌がもつ多クローン性B細胞活性化因子(polyclonal

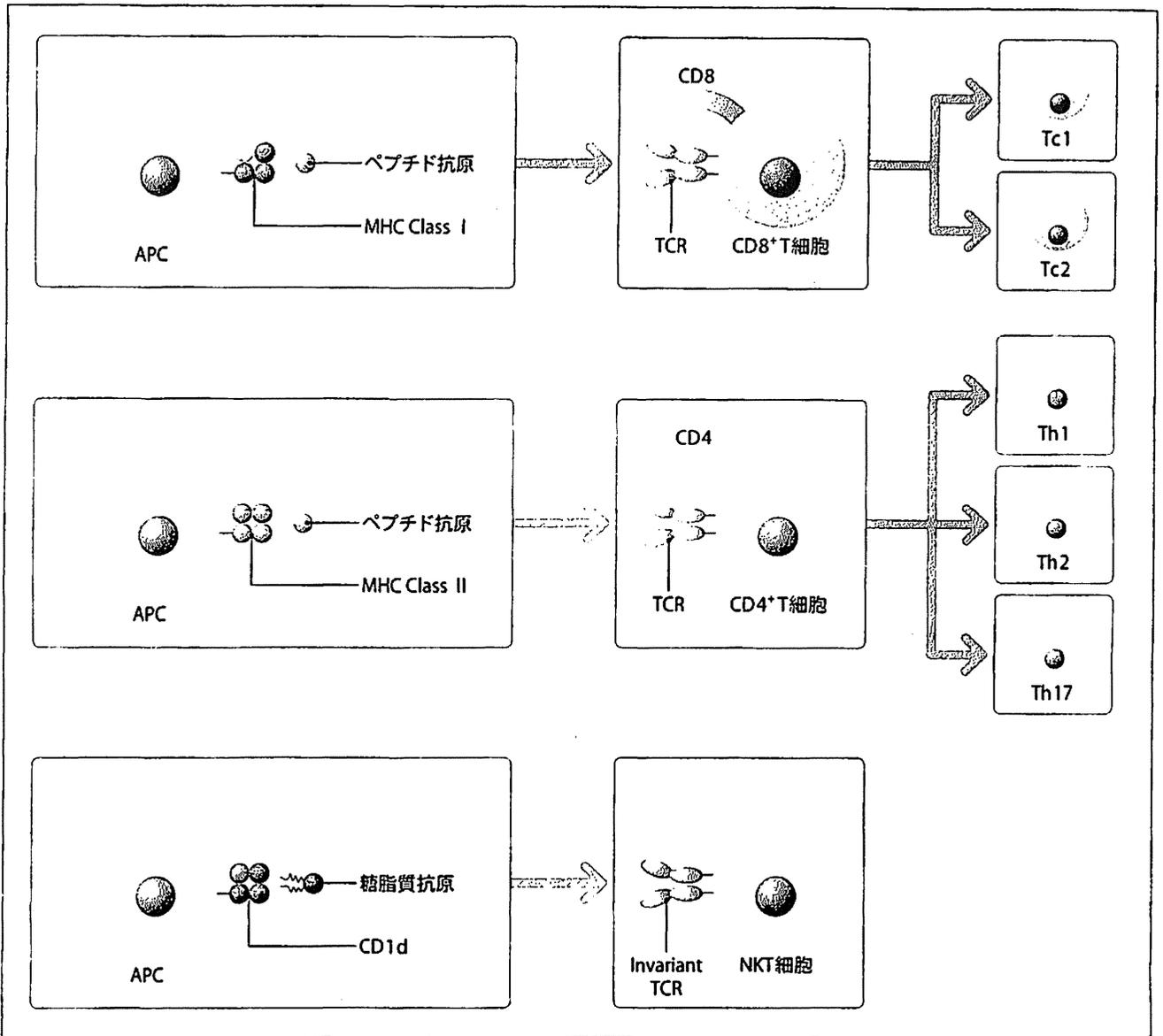


図3 抗原提示の機構。

抗原提示細胞および提示する抗原の種類により、活性化されるT細胞サブセットが異なる。それらはさらに、周囲の環境（サイトカイン）により異なる機能的サブセットに分化する。

B-cell activator : PBA) のはたらきによると考えられる。PBAは口腔細菌、非口腔細菌由来の抗原に対する抗体産生を亢進させるのみならず、自己抗原に対する抗体産生も促進すると考えられる。歯周炎の病因にコラーゲンに対する抗体が関与していることが報告されているが、歯周炎局所では自己抗体を産生する能力をもったCD5陽性B細胞の比率が上昇し、抗コラーゲン抗体の産生と相関することが明らかにされている。同時にPBAは歯周病原細菌特異的B細胞の活性化にも関与し、オプソニン効果を発揮する特異抗体産生を通じて防御的なはたらきもしている可能性がある。

細菌由来の抗原にはタンパク抗原、多糖抗原のほか、脂質抗原がある。歯周炎における脂質抗原に対する抗体応答はよくわかっていないが、脂質抗原の提示に関与するCD1分子を発現する細胞が歯周炎局所で認められる。とりわけCD1d陽性細胞数が増加しており、主としてB細胞にその発現が見られる。したがって、脂質抗原に対する抗体についても病因に何らかの関与をしていると考えられるとともに、前述したようにNKT細胞はCD1d拘束性に活性化されることから、脂質抗原に対する免疫応答にNKT細胞が関与していることが示唆される。