

基礎の基礎

服部正平

■ 東京大学大学院新領域創成科学研究科 情報生命科学専攻 /
オーミクス情報センター
■ E-mail : hattori@k.u-tokyo.ac.jp

1979年大阪市立大学大学院工学研究科博士課程修了。化学系企業、九州大学助手、スクリプス研究所とカルフォルニア大学サンディエゴ校研究員、東京大学助教授、理化学研究所チーム長、北里大学教授を経て、2006年より現職。

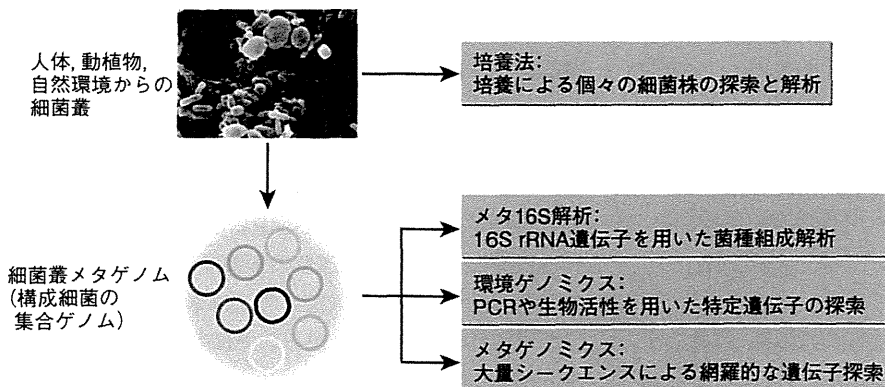
はじめに：細菌学のダークマター

細菌学のルーツはオランダのレーウエンフックが手製の顕微鏡で微生物(細菌)の存在を記録した1663年に遡る。ついで、1800年代後半にコッホやパスツールにより炭疽菌やコレラ菌などの病原菌の純粋培養法(低温殺菌や寒天培地)や抗血清療法などが開発され、感染症(病原菌)を対象とした近代細菌学が確立された。一方、人体には病原菌と区別される常在菌が生息する。1886年にはエッシェリヒによって今日の大腸菌(*Escherichia coli*)が乳児から分離された。パスツールは「人間の生存には常在菌が必須である」と推測したが、この推測は今日の無菌マウスの作製によって否定された。しかし、無菌マウスは盲腸の肥大化などの組織学的にも免疫学的にも様々な異常があり、常在菌は個体の成熟化に必須であることは今日疑いのない事実となっている。我が国の常在菌研究は、光岡知足博士らによる腸内細菌の系統的研究(腸内細菌学)が進められた1960年代に始まる。1980年代には、PCRによる細菌の16SリボソームRNA(16S rRNA)遺伝子を指標とした培養を介さない解析法が開発された(図1)。このメタ16S解析(細菌叢の16S rRNA遺伝子を一括解析する)で検出された菌種数が培養法での菌種数を大きく凌駕し、ヒト腸内細菌叢には多くの未知“難培養性細菌”が存在す

ることが示された。一方で、16S解析で検出された個々の細菌の性質や機能はそれらを培養しないかぎり知ることはできない。この細菌叢研究の限界とジレンマは長い間多くの未知細菌を手付かずのままにした。これは土壌などの他の環境細菌叢も同様であった。そして、この限界を打破する土壌細菌叢のメタゲノム(全構成細菌の集合ゲノム)から有用な遺伝子を探索する手法が1998年に提唱された¹⁾。ここで使われた“メタゲノム”は特定の遺伝子を狙い撃ちするためのリソースを意味し、2004年に発表された海洋細菌や鉱山廃液細菌叢の遺伝子をショットガンシークエンスで枚挙するメタゲノム解析とは意味合いが異なる。そのため今日では、前者を環境ゲノミクス、後者をメタゲノミクスと区別する方向にある(図1)。一方、ヒト腸内細菌叢のメタゲノム解析は2006年と2007年に米国と日本のグループにより相次いで論文となった^{2),3)}(表1)。ここに、半世紀に及んだ個別菌の培養や菌種中心の常在菌叢研究は、今や全体構造や機能(宿主への作用)を究明するヒトマイクロバイオーム研究へと変貌した。

マイクロバイオーム研究の推移

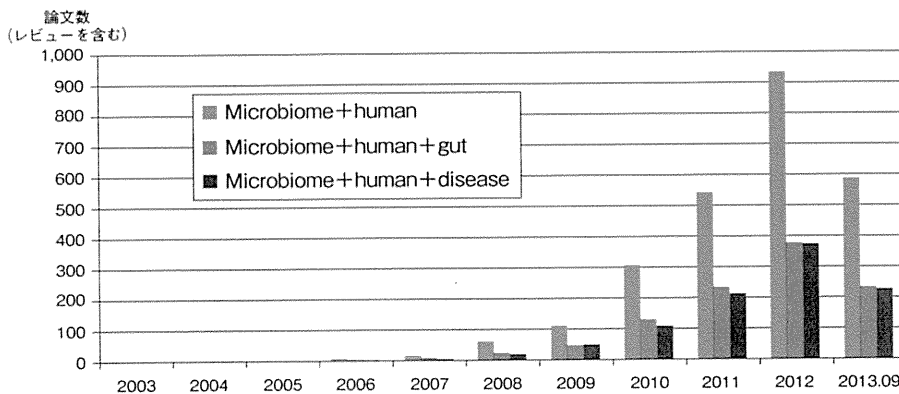
この10年間でのヒトマイクロバイオーム研究の推移を表



■ 図1 細菌叢の解析方法

■表1 マイクロバイオーム研究の主要な論文と国際動向

2003年	・ ヒト糞便ウイルスのメタゲノム解析(Breitbart Mら)
2005年	・ HMGJ(Human MetaGenome Consortium Japan)の発足
2006年	・ 3名のアメリカ人の腸内細菌叢メタゲノム解析(Gill SRら)
2007年	・ 13名の日本人の腸内細菌叢メタゲノム解析(Kurokawa Kら)
2008年	・ 欧州MetaHIT(Metagenomics of the Human Intestinal Tract)プロジェクト ・ 米国NIH HMP(Human Microbiome Project) ・ IHMC(International Human Microbiome Consortium)発足
2009年	・ ヒト全身(27部位)の常在細菌叢の解析(Costello EKら) ・ ヒト腸内細菌叢と肥満の関係解明(Turnbaugh PJら)
2010年	・ 皮膚細菌叢による法医学での個人識別の可能性(Fierer Nら) ・ 欧州人(124名)腸内細菌叢のメタゲノム解析(Qin Jら)
2011年	・ <i>Bifidobacterium</i> による大腸菌O157感染死の防御機構の解明(Fukuda Sら) ・ ヒト腸内細菌叢エンテロタイプの発見(Arumugam Mら)
2012年	・ 中国人(345名)のメタゲノムから2型糖尿病のマーカーの探索 ・ 米国HMP:139名のアメリカ人(18部位)常在菌叢のメタゲノム解析 ・ アイルランド高齢者(178名)腸内細菌叢のメタゲノム解析 ・ 大腸がんに関連する <i>Fusobacterium</i> の同定(Kostic ADら)
2013年	・ 健康者糞便を用いた感染症治療の可能性(van Nood Eら) ・ ロシア人(96名)の腸内細菌叢メタゲノム解析 ・ メタゲノムから肥満マーカーの探索(Le Chatelier Eら) ・ 糖尿病を含むスウェーデン人(145名)腸内細菌叢のメタゲノム解析 ・ Tregを誘導するヒト <i>Clostridium</i> 菌の発見(Atarashi Kら)



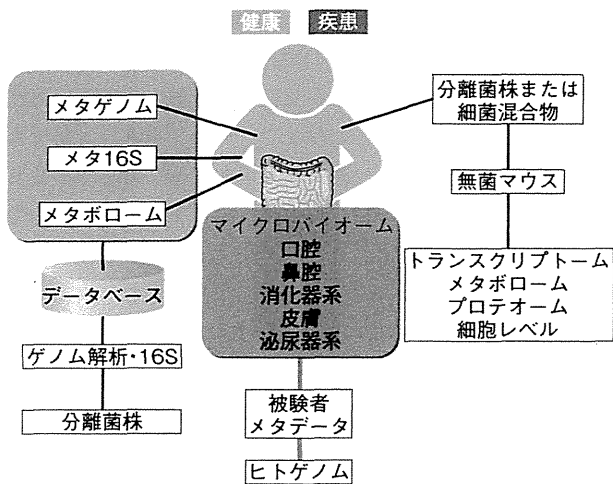
■図2 ヒトマイクロバイオーム研究の論文数

Microbiome + human, Microbiome + human + gut, Microbiome + human + diseaseのキーワードでそれぞれPubMed検索した結果を示す(2013年9月現在)。

1と図2にまとめた。2003年に発表されたヒト糞便中のウイルス配列のショットガンシーケンスをメタゲノム解析の最初の論文と位置づけ、その後、2005年筆者が中心となり、我が国にコンソーシアム(HMGJ)が発足し、同年パリで日米欧中などの研究者が集まったヒトマイクロバイオーム研究の最初の国際会議が開催された。ついで、これらのメンバーをコアとして2008年に国際コンソーシアムIHMCが設立された⁴⁾。この背景には、米国NIHのHMP、フランスを中心とした欧州連合(EU)+中国BGI(Beijing Genomics Institute)のMetaHITプロジェクトの開始があった。HMPは口腔や皮膚、腸内などの全身の常在菌叢をターゲットにし、MetaHITは腸内細菌叢に特化したプロジェクトである。

この世界的なマイクロバイオーム研究の始動後、関連論文は毎年急増し、2012年には2008年時の約10倍の論文が公

表された。2006年と2007年には米国グループと筆者らのHMGJが従来のサンガー法を用いて計16名の腸内細菌叢メタゲノムデータを世界に先駆けて公表した^{2),3)}。その後、次世代シーケンサー(next-generation sequencers; NGS)の普及もあり、大量のメタゲノム、メタ16Sデータ、個別培養細菌ゲノムデータの収集がNGSベースの解析パイプラインを通して大規模に進められている(須田氏らの稿)。2010年にはMetaHITが124名の炎症性腸疾患(IBD)を含む欧州人(スペイン人+デンマーク人)の腸内細菌叢メタゲノムを発表した⁵⁾。2012年にはHMPによる139名のアメリカ人の腸内や口腔などの18部位の常在菌叢⁶⁾、MetaHITによる糖尿病を含む345名の中国人⁷⁾、178名の平均78歳のアイルランド人⁸⁾の腸内細菌叢がそれぞれ論文となった。さらに、2013年には糖尿病を含む145名のスウェーデン人⁹⁾と96名



■図3 ヒトマイクロバイオーーム研究の概要

のロシア人¹⁰⁾の腸内細菌叢データが論文となった。筆者らも100名以上の日本人腸内細菌叢メタゲノムデータの解析を進めている(西嶋ら, 未発表)。

マイクロバイオーーム研究のトレンド

上述したヒトマイクロバイオーーム研究の概要を以下にまとめた(図3)。

マイクロバイオーーム解析の大規模化: 多数の被験者データからのヒトマイクロバイオーームの基本構造(細菌と遺伝子組成)の解明とIBDや糖尿病などの様々な疾患患者の細菌叢解析(+被験者メタデータの収集)が世界的に進められている。現在、様々な国からトータルで1,000人以上の腸内細菌叢データが蓄積されている(表1)。このほか、3,000株以上のゲノム情報を収集するヒト由来個別細菌株のシーケンスも進んでいる(<http://www.hmpdacc.org/>)。当初、ヒト腸内の難培養性細菌は全体の約80%と見積もられたが、これらの培養が積極的に検討されたり、培養されたすべての細菌株が調べられたりしたわけではなく、今日ではこの数字は過大な見積もりとなっている。事実、これまでにIHMCでシーケンスされた細菌株には、難培養性と分類されていた菌種が多数含まれている。この個別ゲノム情報はメタゲノムやメタ16Sデータの正確な菌種帰属や菌種組成の定量解析にきわめて有効なリファレンスとなっている。

疾患マーカーの探索: 2型糖尿病⁷⁾や肥満¹¹⁾に相関する細菌遺伝子や細菌種の検出、つまりマイクロバイオーームからの疾患マーカーの探索である。例えば、BMI>30(肥満)と

BMI<25の被験者群間で有意に増減する9菌種のROC(receiver operating characteristic)解析でのベストAUC(area under ROC curve)値が0.78となった。この値はヒトゲノムの32の肥満関連遺伝子座でのAUC値(0.58)よりも高く、ヒト遺伝子よりも高い予測能・診断能があることを示す。今後は、宿主の遺伝マーカーとマイクロバイオーームマーカーまたはタイプを組み合わせたリスク評価へと展開されるであろう。

機能細菌の探索: 宿主に対して特定の機能を有するヒト常在菌の探索や宿主-細菌間相互作用のメカニズムの解明に関する研究である。例えば、腸管T細胞の分化を誘導する*Clostridium*属の同定(本田氏の稿)、腸内優占菌種の*Bifidobacterium*による大腸菌O157感染死の防御機構の解明(福田氏らの稿)、あるいは、大腸がん患者の糞便や患部に特徴的に存在する*Fusobacterium*の検出などが挙げられる^{12)~14)}。上述のメタゲノムからの疾患関連の菌種や遺伝子の探索をデータ駆動型のトップダウン戦略とすれば、これらの研究は実験データに基づいたボトムアップ戦略である。同定された機能細菌(とその遺伝子や代謝物など)は、疾患と細菌叢の関係や発症メカニズムの解明、さらには、疾患の寛解や治療法の開発につながると期待される。また、これらの情報はメタゲノムデータをより生物学的に解釈するうえで有効である。

マイクロバイオーームの構造

ヒトマイクロバイオーームは主に4つの門(*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*)に属する菌種で占められている。表2に健康なヒトに高頻度で検出される菌種の例を示す。これら常在菌種の相対組成は個人間や生息部位ごとで大きく異なる⁶⁾。*Firmicutes*門は腸内の最優占菌種であり、*Actinobacteria*門や*Proteobacteria*門は口腔や皮膚、鼻腔でその組成比が高くなる。マイナー菌種である*Fusobacteria*門は口腔細菌叢で相対的に多くなる。TM7門のような口腔内でしか検出できない菌種もいる。本特集では腸内細菌叢(西嶋氏らの稿)、皮膚細菌叢(富田氏の稿)、口腔細菌叢(竹下氏らの稿)についてそれぞれ解説されている。

個人間の多様性はこれら菌種の有無や組成比の違いに起因する。例えば、124名の欧州人の腸内細菌叢メタゲノム解析では、検出された少なくとも1,000種の細菌種のうち、124名全員に共通した菌種はわずか18菌種であり、遺伝子(約330万のユニーク遺伝子)においては1:1の個人間で約38%しか共有されていない⁵⁾。よって、常在菌叢にはヒトゲノム

■表2 ヒト常在菌叢を構成する主な細菌種

門	属
Firmicutes	<i>Clostridium</i>
	<i>Eubacterium</i>
	<i>Lactobacillus</i>
	<i>Ruminococcus</i>
	<i>Roseburia</i>
	<i>Blautia</i>
	<i>Dorea</i>
	<i>Enterococcus</i>
	<i>Faecalibacterium</i>
	<i>Gemella</i>
	<i>Lachnospiraceae</i>
	<i>Streptococcus</i>
	<i>Staphylococcus</i>
	<i>Veillonella</i>
Bacteroidetes	<i>Bacteroides</i>
	<i>Prevotella</i>
	<i>Parabacteroides</i>
	<i>Porphyromonas</i>
Actinobacteria	<i>Bifidobacterium</i>
	<i>Eggerthella</i>
	<i>Actinomyces</i>
	<i>Collinsella</i>
	<i>Rothia</i>
	<i>Corynebacterium</i>
Proteobacteria	<i>Propionibacterium</i>
	<i>Escherichia</i>
	<i>Haemophilus</i>
	<i>Klebsiella</i>
	<i>Neisseria</i>
	<i>Pseudomonas</i>
Fusobacteria	<i>Fusobacterium</i>
	<i>Leptotrichia</i>
Spirochaetes	<i>Treponema</i>
TM7	TM7
Verrucomicrobia	<i>Akkermansia</i>

のような血縁同士の高い遺伝性(約98%の相同性)はほとんどなく、きわめて個人に特異的である。この特徴を利用して皮膚細菌叢プロファイルを法医学分野での個人識別に使う研究もある¹⁵⁾。一方、ヒト腸内細菌叢は大きく3つのタイプ(エンテロタイプ)に分類できる¹⁶⁾。*Bacteroides* (Type 1)、*Prevotella* (Type 2)、*Ruminococcus* (Type 3)の3属がそれぞれのタイプで優占菌種となる特徴を持つ。エンテロタイプは人種や食習慣などに関係なく、ヒト一様に分布すると考えられているが、最近の筆者らの解析から、日本人の多くはType 3であり、欧米人の多くはType 1であることがわかった。エンテロタイプは人種・食習慣・地域によって、その分布状態が偏っているらしい(西嶋ら、未発表)。また、エンテロタイプと疾患、あるいは国ごとに異なる食習慣・文化との相関性も興味があるところである。もう1つの腸内細菌叢の

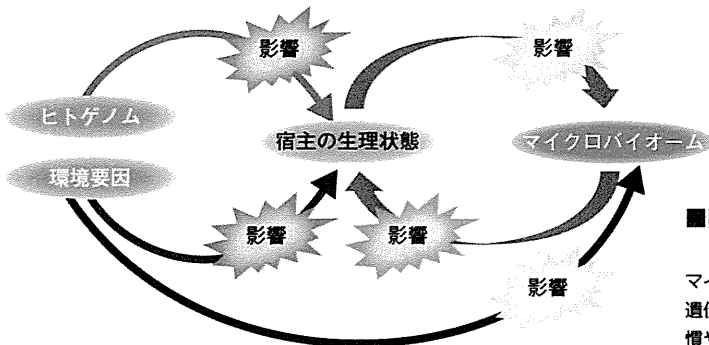
特徴は菌種組成がlong tail分布〔細菌叢を構成する数百~1,000菌種のうち、少数の優占菌種(菌種は一様でない)がその大部分を占め、残りのわずかな部分を多数のマイナー菌種が占めること〕になることである¹⁶⁾。腸内細菌叢は食事や人種、宿主の生理状態などの様々な要因が複雑に絡んで形成されるが、これらは優占菌種やマイナー菌種を決定するものであり、long tailを説明するものではない。このlong tailの形成原理を数理モデルからアプローチする研究が行われている(高安氏らの稿)。

マイクロバイオーームと疾患

ヒト常在菌は様々な生活習慣病と密接に関係する(表3)。これらの疾患のうち、ヒトにおいてその関連が明確なのはIBD、肥満、糖尿病、大腸がん、自閉症、アテローム性動脈硬化症などである。その根拠として、これら患者の腸内細菌叢(菌種組成や菌種数)の異常、病巣での特異的な細菌種の高頻度の検出などが挙げられる^{5), 13), 17)~19)}。糖尿病では患者群で共通した遺伝子が検出されている⁷⁾。自閉症と関連して腸内細菌が脳機能に及ぼす影響を示したマウスの研究もある²⁰⁾。これら以外ではメタボリック症候群、リウマチ、多発性硬化症などでモデルマウスのデータから関連性が示唆されている。このほか、乳児・幼児の成長時や女性の妊娠時で腸内細菌叢が大きく変動する^{21), 22)}。これらのデータは、これまでの想像をはるかに越えて、常在菌叢(腸内細菌叢)は宿主の様々な生理状態と密接に連動していることを示唆する。まさしくヒトはレダーバーク博士の言う“超有機体”である(西嶋氏らの稿)。

■表3 常在菌と関連疾患

肥満
メタボリック症候群
炎症性腸疾患 (IBD)
過敏性大腸炎
アテローム性動脈硬化症
リウマチ
糖尿病 (1型, 2型)
アレルギー
喘息
セリアック病
大腸がん
肝臓がん
湿疹
歯周病
多発性硬化症
自閉症



■図4 マイクロバイオーーム、ヒトゲノム、宿主の生理状態、環境因子の関係

マイクロバイオーームと宿主の生理状態は互いに影響し合う。宿主はさらに遺伝的背景とその環境要因の影響を受ける。マイクロバイオーームは食習慣や抗生物質などの環境要因の影響も受ける。

疾患の細菌叢異常は原因か？ 結果か？

多くの疾患患者群の細菌叢は健常者群との比較において、その菌種組成や菌種数が有意に異なり、細菌叢異常 (dysbiosis) を示す。例えば、IBDの腸内細菌叢では *Firmicutes* と *Bacteroidetes* の組成比が健常者群に比べて有意に減少し、*Proteobacteria* が相対的に増加する。また、菌種数も有意に減少している。肥満では *Firmicutes* が増加し、*Bacteroidetes* が相対的に減少する。ここで問題となるのは、宿主の免疫系などの生理状態の変化が細菌叢に影響するのか、細菌叢異常が宿主の生理状態に影響するのかである。遺伝子欠損でメタボリック症候群になったマウスの腸内細菌叢は dysbiosis を起こす。ところが、この dysbiosis した腸内細菌叢を遺伝的に健全な無菌マウスに移植すると、そのマウスもメタボリック症候群を発症した²³⁾。同様のことが肥満マウスなどでも観察されている。つまり、両者は互いに影響し合うニワトリと卵の関係にあるようだ(図4)。

おわりに：糞便は良薬になるか？

健常者の糞便(マイクロバイオーーム)を「薬」として使用する研究が話題を呼んでいる²⁴⁾。抗生物質の投与では完治しにくい感染症に健常者の新鮮な糞便を投与したところ治癒率が格段に向上したことが報告された²⁵⁾。しかし、腸内細菌叢は個人間で多様であり、糞便中のすべての細菌がわかっているわけでもなく、まれな病原菌の存在も否定できない。そのため、健常者から分離した既知細菌種の混合物を試験管培養して、安全で健康な(?)人工細菌叢の作製も試行されている²⁶⁾。または、上述した機能細菌を含んだ細菌カプセルも有望と考えられる。一方、移植した細菌叢が治療後どれだけ長く安定に患者腸内に定着するかは不明である。成人の腸

内細菌叢は日々ある範囲で揺らいでいるが長期にわたって頑丈であり、抗生物質投与後でも時間が経過すればほぼ元の細菌叢に戻る。よって、腎疾患の人工透析のように定期的な糞便総替えが必要になるかもしれない。ヒトゲノムは一生不変であるのに対して、マイクロバイオーームは理論的にリセット可能である。これらのことから健康で安定な人工細菌叢のデザインが近々の課題になると考えられる(宋氏らの稿)。

文献

- 1) Handelsman J, et al: Chem Biol (1998) 5: R245-249
- 2) Gill SR, et al: Science (2006) 312: 1355-1359
- 3) Kurokawa K, et al: DNA Res (2007) 14: 169-181
- 4) Mullard A: Nature (2008) 453: 578-580
- 5) Qin J, et al: Nature (2010) 464: 59-65
- 6) Human Microbiome Project Consortium: Nature (2012) 486: 207-214
- 7) Qin J, et al: Nature (2012) 490: 55-60
- 8) Claesson MJ, et al: Nature (2012) 488: 178-184
- 9) Karlsson FH, et al: Nature (2013) 498: 99-103
- 10) Tykht AV, et al: Nat Commun (2013) 4: 2469
- 11) Le Chatelier E, et al: Nature (2013) 500: 541-546
- 12) Fukuda S, et al: Nature (2011) 469: 543-547
- 13) Kostic AD, et al: Genome Res (2012) 22: 292-298
- 14) Atarashi K, et al: Nature (2013) 500: 232-236
- 15) Fierer N, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2010) 107: 6477-6481
- 16) Arumugam M, et al: Nature (2011) 473: 174-180
- 17) Frank DN, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2007) 104: 13780-13785
- 18) Koren O, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2011) 108 Suppl 1: 4592-4598
- 19) Finegold SM, et al: Anaerobe (2010) 16: 444-453
- 20) Diaz Heijtz R, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2011) 108: 3047-3052
- 21) Koenig JE, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2011) 108 Suppl 1: 4578-4585
- 22) Koren O, et al: Cell (2012) 150: 470-480
- 23) Vijay-Kumar M, et al: Science (2010) 328: 228-231
- 24) Mole B: Nature (2013) 498: 147-148
- 25) van Nood E, et al: N Engl J Med (2013) 368: 407-415
- 26) Allen-Vercoe E, et al: Expert Rev Gastroenterol Hepatol (2013) 7: 291-293

慢性炎症性脱髄性神経炎 (CIDP) における T細胞ケモカイン受容体の解析*

佐藤和貴郎

Key Words: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (慢性炎症性脱髄性神経炎(CIDP)), chemokine receptors (ケモカイン受容体), C-C chemokine receptor type 5 (CCR5), Th17 cell (Th17細胞)

Peripheral Nerve 2014; 25(2): 238-242

はじめに

慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy : CIDP) は、運動、感覚障害を呈する末梢神経の後天性の炎症性脱髄疾患である¹⁾。根本原因は不明であるが自己免疫機序の関与が想定されている。慢性進行性あるいは再発と寛解を繰り返す経過をとることが多い。運動神経や感覚神経の障害により歩行が困難になるなど、患者のADLが大きく低下しうる疾患である。

CIDPの病態メカニズムについては、動物モデル等の検討から、T細胞を中心とする細胞性免疫およびB細胞による抗体産生等を含む液性免疫の両者が病態に関与すると考えられている²⁾。免疫治療としてステロイド治療や、大量ガンマグロブリン療法 (IVIG)、血液浄化療法が行われ、いずれかの治療が奏効することが多い。しかし治療反応性は患者ごとに差が大きく、また治療効果の予測は難しい。CIDPは経過や予後についても多様性が高く、その理由の一つとして背景となる免疫学的病態が異なる可能性が考えられている。CIDPはいくつかの臨床病型に分類されている。一般的に左右対称性などを特徴とする典型的CIDP (typical CIDP) と非典型的CIDP (atypical CIDP) に二分される。非典型的CIDPの病型の代表はMADSAM (multifocal acquired demyelinating sensory

and motor neuropathy) である。現在の診療における問題点として、標準治療に抵抗性の患者や副作用や合併症により免疫治療が十分行えない患者に対する代替治療に乏しい点、また治療効果を予測する、あるいは病態・病勢を反映するバイオマーカーに乏しい点が挙げられる。

CD4陽性T細胞とT細胞免疫学の進歩

CIDPの病態機序については、病理組織による検討などから以下の機序が想定されている。髄鞘抗原を標的とする自己反応性のT細胞が、血液神経関門を越えて末梢神経組織内に侵入し、局所で活性化されて各種炎症性サイトカインの放出やマクロファージの活性化等のメカニズムを介し、末梢神経脱髄が誘導されるというモデルである。しかし、浸潤するT細胞の詳細な表現型など、未解明な部分が少なくない²⁾。

近年、CD4陽性T細胞 (ヘルパーT細胞 : Th細胞) についての基礎研究が進み、Th細胞が以前考えられていたより多様なサブセットから構成されることが明らかとなった (図1)。炎症性サイトカイン等の産生を誘導し免疫反応を促進するサブセットがある一方で、逆に炎症や免疫反応の制御・終息に重要なサブセットが存在している。前者の代表がTh1細胞やTh2細胞、Th17細胞であり、後者が制御性T細胞 (Regulatory T cell : Treg) である。ナイーブ

* Analysis of T cell chemokine receptor expression of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). Wakiro SATO : (独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所免疫研究部 [〒187-8502 小平市小川東町4-1-1] Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo

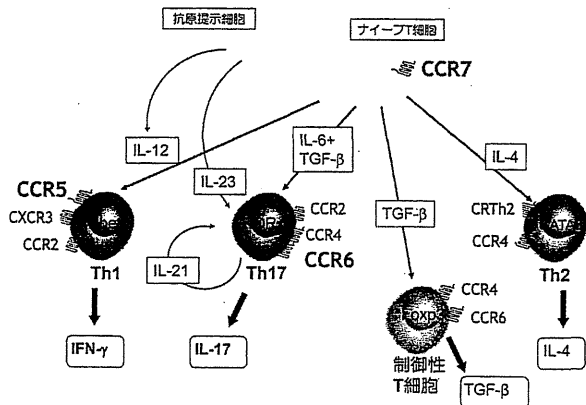


図1. CD4陽性メモリーT細胞の分化とケモカイン受容体
 ナイーブT細胞が抗原提示細胞により抗原提示を受け活性化するとき、種々のサイトカインの影響により、それぞれ異なるエフェクターT細胞へと分化する。各エフェクター細胞はそれぞれ特徴的なサイトカイン産生パターン、転写因子やケモカイン受容体の発現パターンを示す。

T細胞はサイトカインなどの影響下に、転写因子を発現しつつ、特定のサイトカインを産生し、免疫反応を誘導（あるいは制御）するサブセットに分化する。細菌やウイルス、寄生虫などの多様な病原体に対して「適材適所」に免疫反応を誘導する仕組みと考えられる。例えば、結核などの細胞内寄生菌に対する免疫応答時に誘導されやすいTh1細胞はインターフェロン γ (IFN γ) を産生する。一方、寄生虫感染時に誘導されるのが、インターロイキン4 (IL-4) やIL-10を産生するTh2細胞である。約10年前、好中球誘導能などをもつIL-17の産生を特徴とする「Th17細胞」と呼ばれるサブセットが新たに発見された³⁾。Th17細胞は関節リウマチや多発性硬化症などの自己免疫疾患の動物モデルにおいて、Th1細胞を凌駕する病原性をもつことが証明され、自己免疫疾患での役割に注目が集まった。

ところで、リンパ球の体内動態の制御に関わるサイトカインが知られ、ケモカインと呼ばれている。ケモカインは多くの種類が知られているが、ケモカインがリガンドとして、細胞膜上のケモカイン受容体に結合することにより、細胞の生体内での移動がコントロールされる。ケモカインシグナルは細胞の遊走だけでなく、リンパ球の活性化にも関与する⁴⁾。T細胞が各サブセットに分化する時、発現するケモカイン受

容体の種類が変化する。ナイーブT細胞はCCR7を発現しているが、活性化しエフェクター細胞になるとCCR7の発現が消失し、代わりにCCR2やCCR5などの炎症性ケモカイン受容体を発現する。ケモカイン受容体の発現パターンはTh細胞のサブセットごとに異なっている。これはケモカインが産生される炎症の「現場」に「必要な」細胞が遊走する目的に適っている⁵⁾。具体的にはTh1細胞ではCXCR3やCCR5が、Th17細胞ではCCR6やCCR4の発現が高いと報告されている^{6,7)}。ただし各サブセットと個々の受容体の対応は、一対一対応ではない。例えばCCR4はTh2細胞や制御性T細胞 (Treg) に発現しやすいが、Th1細胞には基本的に発現しない。しかしながら、このような対応があるために、ケモカイン受容体の発現パターンを目安としてTh細胞のサブセットをある程度推定することができる。その後検討が進み、最近ではTh17細胞は機能的に異なる細胞集団から構成されることがわかってきた。すなわち、IL-17産生性の細胞は、他のサイトカイン産生のパターンや発現する転写因子に多様性がみられ、同じTh17細胞でも、自己免疫疾患モデルにおける病原性が大きく異なることが

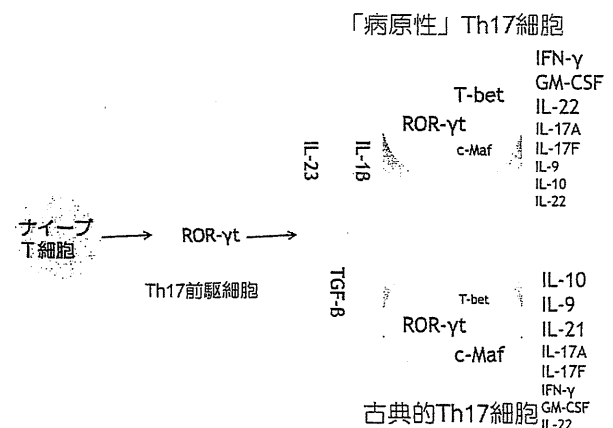


図2. Th17細胞をスペクトラムとして捉える
 ナイーブT細胞は、転写因子ROR-gTを発現するTh17前駆細胞に分化したのち、周囲のサイトカイン環境により多様なTh17細胞へと分化する。IL-23やIL-1 β の多い環境ではIFN-gやGM-CSFの産生などを特徴とする「病原性」T細胞へと分化し、腸管などのTGF- β のリッチな環境ではIL-10などの産生を特徴とする古典的Th17細胞となるというモデルが提案されている。(Current Opinion in Immunology 2011; 23: 702-706より引用改変)

わかったのである^{8,9)}。様々な知見をもとに、Th17細胞を「病原性」から「制御性」まで広くスペクトラムとしてとらえる考え方が提出されている¹⁰⁾(図2)。

我々の研究部では、ヒトTh1細胞、Th17細胞の発現するケモカイン受容体の解析を行っている。複数のケモカイン受容体を発現する細胞が、単一の受容体を発現する細胞と機能的に異なる細胞であることを見出し報告した。CCR2陽性細胞のうちCCR5陽性の細胞はIFN γ の産生能が高いのに対し、CCR5陰性の細胞はIL-17の産生能が高く、前者がTh1細胞を、後者がTh17細胞を多く含む細胞集団であることがわかった¹¹⁾。また、多発性硬化症患者の再発期髄液のリンパ球に発現するケモカイン受容体を解析した結果、CCR2陽性かつCCR5陽性の細胞が疾患特異的に末梢血と比べ増加していた。解析の結果、この細胞が脳内へ侵入しやすい機能を有することがわかり、再発をトリガーする重要な細胞である可能性があることを報告した¹²⁾。ケモカイン多重陽性細胞についての基礎的な研究から、二つの受容体が重合体を形成しうること、またケモカインシグナルの相乗効果(synergy)が見られる可能性が指摘されている^{13,14)}。

CIDPにおけるTh1/Th17細胞の役割

CIDPにおけるTh1/Th17細胞の関与については、末梢神経病理あるいは脳脊髄液の解析などが行われている(図3)。生検組織を用いた

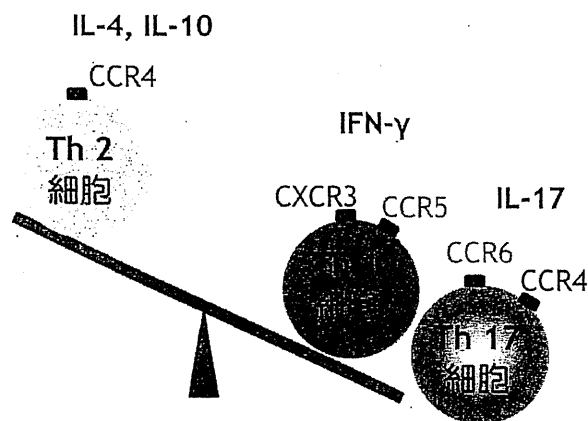


図3. CIDPにおけるTh1細胞・Th17細胞の関与
末梢神経病理や末梢血リンパ球、脳脊髄液リンパ球の解析により、CIDPではTh2細胞よりもTh1細胞やTh17細胞の病態への関与が大きいと考えられる。

検討では、Th1細胞での発現が高いCXCR3の高発現が報告されている。また、CXCR3のリガンドであるIP-10の組織での高発現や脳脊髄液中での増加が報告されている¹⁵⁾。髄鞘ペプチドPMP-2に反応するIFN γ 産生細胞が患者の末梢血中で増加しており¹⁶⁾、Th1細胞の病態への関与が示唆される。一方でTh17細胞については、末梢血および脳脊髄液中でのIL-17の増加や^{17,18)}、IL-17産生細胞の増加が報告されている¹⁹⁾。このように、Th1細胞やTh17細胞がCIDPの病態に関係することは指摘されているが、多様性を有するTh17細胞の「病原性」を考慮に入れた解析はまだ十分には行われていない。

ケモカイン受容体の多重染色によるCIDP病態の検討

われわれの研究室では、免疫性ニューロパチー患者を対象に、リンパ球のケモカイン受容体陽性細胞の発現を調べている。これによりある疾患に関して重要なケモカイン受容体発現細胞が見いだされる可能性がある。具体的な方法は、末梢血から末梢血単核球を分離し、フローサイトメトリーを用い、CD4およびCD8陽性T細胞について、メモリー(CD45RA)、CCR5、CCR6、Foxp3(制御性T細胞のマーカー)の発現を調べ患者において有意な変化を認める細胞分画がないか検討を行っている(図4)。

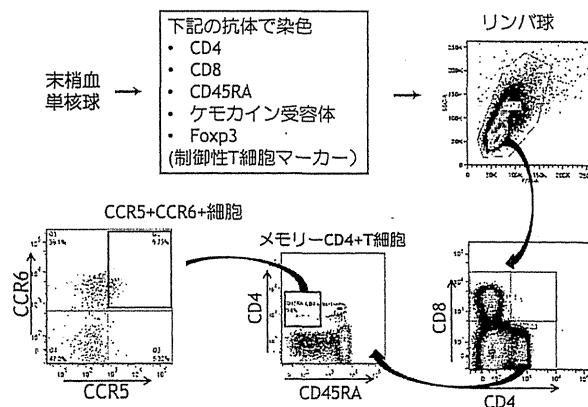


図4. ケモカイン受容体発現細胞の頻度解析
末梢血からリンパ球を分離し、T細胞におけるケモカイン受容体の発現や制御性T細胞のマーカーであるFoxp3の発現をフローサイトメーターで調べた。代表的な解析例を示す。ドットは個々の細胞を表す。このようにしてCCR5陽性CCR6陽性細胞の頻度を算出した。

またTh1細胞やTh17細胞と関連するケモカイン受容体をより詳細に調べるために、CCR5、CCR6に加えCXCR3およびCCR4の発現も同時に測定する検討も行っている。

これまでに、Typical CIDP患者のリンパ球に関していくつかの興味深い結果が得られている。CD4陽性、CD8陽性、Foxp3陽性CD4+T細胞、CCR6陽性CD4+T細胞の頻度については、CIDP患者と健常者で差は見られなかったが、CIDP患者では、CCR5とCCR6の両者を同時に発現する細胞（CCR5+CCR6+細胞）の頻度が健常者に比べて有意に高かった（図5）。CCR5+CCR6+細胞のうちFoxp3+細胞の頻度については差が見られないことから、Foxp3-CCR5+CCR6+の頻度がCIDP患者において高いことが分かった。また、CD8+CCR5+CCR6+細胞の頻度については健常者とCIDP患者の間で有意な差は見られないことから、CD4+細胞すなわちTh細胞に特異的な現象であることがわかった。CXCR3、CCR4、CCR5、CCR6の4種のケモカイン受容体の発現を同時に調べた検討では、それぞれのケモカイン受容体単独陽性細胞の頻度については健常者とCIDP患者の間で有意な差は見られなかった。興味深いことに、CCR5+CCR6+細胞の頻度については、前述の結果と逆に、CIDP患者において有意に低下していた。その理由として考えられるのは、二つの染色方法の違いである。すなわち最初の染色では、細胞内にあるFoxp3を染色するために細胞膜を抗体が通過できるようにDetergentを用いており、そのため細胞内のケモカイン受容体も染色されたと考えられる。一方あとの染色では、細胞膜の受容体のみを染色した。両者の結果を総合すると、CIDP患者では細胞内のCCR5が増加し、細胞表面（細胞膜上）のCCR5は減少していると考えられる。実際、CCR5はCCL5などのケモカインが結合すると細胞内へ受容体が内在化（Internalization）することが報告されている²⁰⁾。我々はCCR5陽性細胞をセル・ソーターを用いて分離し、活性化させる実験を行い、活性化に伴い細胞膜上のCCR5の発現が低下することを確認した。従ってCIDP患者では、細胞内を含むCCR5陽性（かつCCR6陽性細胞）が増加しているが、活性化により細

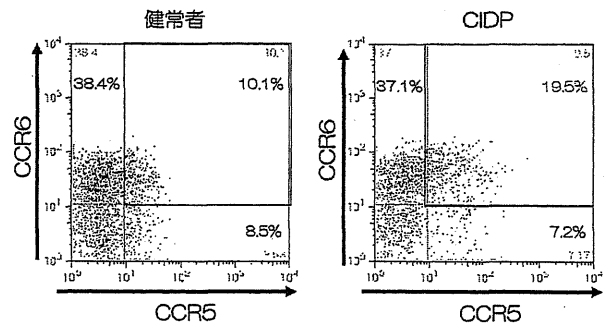


図5. メモリー CD4+T細胞におけるCCR5とCCR6の発現

メモリー CD4陽性 T細胞のCCR5とCCR6の発現を示したフローサイトメーターの解析結果を示す。健常者（左）とCIDP患者（右）の代表例を示した。CIDP患者において、CCR5+CCR6+細胞の割合が健常者よりも高いことが分かる。

胞膜上のCCR5は低下し細胞内のCCR5が増加していると考えられた。患者血清中のケモカイン濃度を定量すると、CCL5（RANTES）の濃度がCIDP患者では健常者と比較して有意に高いことが分かった²¹⁾。CCL5はCCR5のもっとも強力なリガンドである。すなわちCIDP患者の生体内でCCL5によるCCR5陽性細胞の活性化が起こっている可能性が考えられた。

このCCR5+CCR6+細胞が「病原性」を有するか否かについて、前述のKuchrooらのモデルに基づいて機能解析を行った¹¹⁾。細胞内サイトカイン染色の結果から、CCR5+CCR6+T細胞はIFN γ とIL-17の両者を同時に産生する細胞を多く含むことがわかった。またCCR5+CCR6+細胞を活性化させ、サイトカイン産生能を評価したところ、メモリー CD4陽性細胞全体やCCR5-CCR6+細胞と比較し、IFN γ 、IL-17、GM-CSF、IL-21の産生が高いことがわかった。転写因子の発現を調べたところ、T-bet、RORCの高発現、c-mafの低発現を認めた。これらのサイトカイン産生および転写因子発現パターンは、Kuchrooらが提唱しているTh17細胞の中でも病原性の高い細胞集団の特徴とかなりオーバーラップする。すなわち、CIDP患者末梢血で増加しているCCR5+CCR6+細胞は病原性Th17細胞である可能性が高い。

まとめ

今回、複数のケモカイン受容体を発現しているヘルパーT細胞の解析により、CIDP患者に

において、CCR5+CCR6+細胞の末梢血中での頻度が有意に変化していることがわかった。具体的には、CIDP患者の末梢血では、CCR5+CCR6+細胞が健常者と比較して減少していた。CIDP患者のリンパ球では、細胞表面のCCR5の発現が減少しているのに対し、細胞内のCCR5が増加しており、CCR5+CCR6+細胞が患者の生体内で活性化している可能性が考えられた。CCR5+CCR6+T細胞のサイトカイン産生・転写因子発現パターンは、Th17細胞の中でも病原性の高い細胞集団の特徴とよく一致した。以上からCIDPでは、病原性Th17細胞の関与が示唆された。今後、疾患活動性との関連やTh17細胞を標的とした治療の可能性等について検討していく必要がある。

文 献

- 1) Latov N. Diagnosis and treatment of chronic acquired demyelinating polyneuropathies. *Nature Reviews Neurology* 2014; 10: 435-446.
- 2) Dalakas MC. Advances in the diagnosis, pathogenesis and treatment of CIDP. *Nature Reviews Neurology* 2011; 7: 507-517.
- 3) Korn T, Bettelli E, Oukka M, *et al.* IL-17 and Th17 Cells. *Annual review of immunology* 2009; 27: 485-517.
- 4) Mackay CR. Chemokines: immunology's high impact factors. *Nat Immunol* 2001; 2: 95-101.
- 5) Sallusto F, Lanzavecchia A. Understanding dendritic cell and T-lymphocyte traffic through the analysis of chemokine receptor expression. *Immunol Rev* 2000; 177: 134-140.
- 6) Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, *et al.* Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 639-646.
- 7) Singh SP, Zhang HH, Foley JF, *et al.* Human T cells that are able to produce IL-17 express the chemokine receptor CCR6. *J Immunol* 2008; 180: 214-221.
- 8) Lee Y, Awasthi A, Yosef N, *et al.* Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat immunol* 2012; 13: 991-999.
- 9) Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, *et al.* Generation of pathogenic TH17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature* 2010; 467: 967-971.
- 10) Peters A, Lee Y, Kuchroo VK. The many faces of Th17 cells. *Cur Opin Immunol* 2011; 23: 702-706.
- 11) Sato W, Aranami T, Yamamura T. Cutting edge: Human Th17 cells are identified as bearing CCR2+CCR5-phenotype. *J Immunol* 2007; 178: 7525-7529.
- 12) Sato W, Tomita A, Ichikawa D, *et al.* CCR+CCR5+ T cells produce matrix metalloproteinase-9 and osteopontin in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Immunol* 2012; 189: 5057-5065.
- 13) Mellado M, Rodríguez-Frade JM, Vila-Coro AJ, *et al.* Chemokine receptor homo- or heterodimerization activates distinct signaling pathways. *EMBO J* 2001; 20: 2497-2507.
- 14) Gouwy M, Schiraldi M, Struyf S, *et al.* Possible mechanisms involved in chemokine synergy fine tuning the inflammatory response. *Immunology Lett* 2012; 145: 10-14.
- 15) Kieseier BC, Tani M, Mahad D, *et al.* Chemokines and chemokine receptors in inflammatory demyelinating neuropathies: a central role for IP-10. *Brain* 2002; 125: 823-834.
- 16) Csurhes PA, Sullivan AA, Green K, *et al.* T cell reactivity to P0, P2, PMP-22, and myelin basic protein in patients with Guillain-Barre syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 2005; 76: 1431-1439.
- 17) Mei FJ, Ishizu T, Murai H, *et al.* Th1 shift in CIDP versus Th2 shift in vasculitic neuropathy in CSF. *Journal of the neurological sciences* 2005; 228: 75-85.
- 18) Madia F, Frisullo G, Nociti V, *et al.* pSTAT1, pSTAT3, and T-bet as markers of disease activity in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Journal of the Peripheral Nervous System* 2009; 14: 107-117.
- 19) Chi LJ, Xu WH, Zhang ZW, *et al.* Distribution of Th17 cells and Th1 cells in peripheral blood and cerebrospinal fluid in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Journal of the Peripheral Nervous System* 2010; 15: 345-356.
- 20) Fox JM, Letellier E, Oliphant CJ, *et al.* TLR2-dependent pathway of heterologous down-modulation for the CC chemokine receptors 1, 2, and 5 in human blood monocytes. *Blood* 2011; 117: 1851-1860.
- 21) Lin YL, Mettling C, Portales P, *et al.* The chemokine CCL5 regulates the *in vivo* cell surface expression of its receptor, CCR5. *Aids* 2008; 22: 430-432.

特集：Human Immunology：疾患理解から治療へ 総 説

多発性硬化症における脳脊髄液 T 細胞ケモカイン受容体解析

佐藤和貴郎

Chemokine receptor expression of T cells in the cerebrospinal fluid of relapsing multiple sclerosis

Wakiro SATO

National Institute of Neuroscience, Department of Immunology, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

(Accepted February 13, 2014)

summary

Multiple Sclerosis (MS) is an autoimmune-mediated chronic demyelinating disease of the central nervous system. The role of CD4+ T helper T cells in the pathogenesis of this disease is established. CD4+ T cells comprise various Th subsets, including Th1 and Th17 cells. The contribution of each T cell subset to MS pathology is not fully elucidated. As each Th subset have characteristic chemokine receptor expression patterns, we compared the frequency of various inflammatory chemokine receptor positive Th cells in peripheral blood with those from cerebrospinal fluid (CSF) for each MS patient. CCR2+CCR5+ CD4+ T cells were selectively enriched in the CSF of MS patients but not in other neurological diseases. Peripheral CCR2+ CCR5+CD4+ T cells produced both IFN- γ and IL-17, expressed Matrix Metalloproteinase-9 (MMP9) and Osteopontin, and transmigrated in an in vitro blood brain barrier model more efficiently than other Th cells, suggesting a BBB-invading mechanism and an important role in the relapse of MS. This study illustrates the potential of method in which examining the combination of chemokine receptors could reveal a Th subset with disease-relevant function.

Key words— multiple sclerosis; Th17 cells; CCR2; osteopontin; MMP-9

抄 録

多発性硬化症 (Multiple Sclerosis: MS) は中枢神経系の慢性炎症性脱髄を特徴とする臓器特異的自己免疫疾患である。再発期と寛解期があり、再発には T 細胞が重要な役割を果たしている。中でも IFN- γ を産生する Th1 細胞とともに IL-17 の産生を特徴とする Th17 細胞の病原性が近年注目されている。Th1 細胞や Th17 細胞などのヘルパー T 細胞サブセットはそれぞれ特徴的なケモカイン受容体を発現する。Th1 細胞は CXCR3 や CCR5 陽性、Th17 細胞は CCR2 陽性 CCR5 陰性および CCR4 陽性 CCR6 陽性を特徴とする。再発寛解型 MS 患者の CD4+T 細胞における CCR2, CCR4, CCR5, CCR6 の発現をフローサイトメトリーで調べたところ、末梢血 CD4+ T 細胞における各分画の頻度は健常者あるいは疾患コントロールと比較し有意な増加や減少を認めなかった。しかし再発期 MS 患者の脳脊髄液では CCR2+CCR5+ 細胞の頻度が末梢血中の頻度と比較し疾患特異的に増加していた。同細胞は活性化により IFN- γ と IL-17 の両者を産生、また血液脳関門の破綻に関わる Matrix-Metalloproteinase-9 (MMP-9) の高発現や炎症惹起蛋白 Osteopontin (OPN) の高発現、さらに血液脳関門モデルの高い通過能をもっていた。このことから再発時に「先兵」として中枢神経系に浸潤しやすい細胞と考えられた。複数のケモカイン受容体の発現パターンを調べることにより、疾患に関連する重要なリンパ球分画を同定できる可能性がある。

はじめに

多発性硬化症 (MS) は代表的な中枢神経系の慢性炎症性脱髄疾患である¹⁾。病変が脳・脊髄・視神経の様々な部位に (空間的多発)、時期を違えて繰り返し (時間的多発) 起こる点特徴的である。中枢神経系を構成する有髄神経は髄鞘 (ミエリン) に

覆われているが、髄鞘の脱落を「脱髄」と呼び、MS 病理の重要な所見として 19 世紀に記載された。しかし近年、軸索障害や神経変性など神経細胞の障害が発症早期から起こることも明らかとなっている²⁾。疫学的には、女性に多く 20-30 歳代に発症のピークをもち、欧米白人に多くアジア人には少ないが、特定疾患受給者数の推移をみると過去 30-40 年間で本邦の患者数は急増しており現在約 2 万人の患者がいると推定される。

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター (NCNP)
神経研究所免疫研究部

MS の臨床的経過には多様性があり、「良性 MS」と呼ばれる予後のよい一群の患者も存在するが、最も一般的な経過は、発症後しばらくは再発と寛解を繰り返す「再発寛解型」で、その後 5-20 年程度の年数を経て再発頻度は減少するが歩行障害など神経障害が徐々に進行する「二次進行型」に移行するパターンである。その免疫学的病態についてハーバード大の Weiner 教授は、「再発期」には獲得免疫系による自己免疫性の炎症性脱髄が中心的な役割を果たし、「進行期」には自然免疫系の関与が優位となり炎症より神経変性が目立つというモデルを提案している³⁾ (図 1)。進行期の病態は未解明の部分が多いが、「再発時」に CD4 陽性ヘルパー T 細胞が決定的な役割を果たすことは、MS の代表的な動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: EAE) の多くの知見や、ゲノムワイド疾患関連遺伝子解析 (GWAS) の結果⁴⁾、さらに T 細胞に対する分子標的療法が再発抑制に有効であることなど、多方面から支持されている。MS は従来「Th1/Th2 バランス」が Th1 優位に傾いて発症する「Th1 病」と考えられてきたが、Th17 細胞の発見後、Th17 細胞の MS における「病原性」について、近年活発な研究が行われてきた。著者らの研究室では MS 患者の脳脊髄液中の T 細胞ケモカイン受容体発現に着目した解析を行い、再発に重要な役割を果たすと考えられる一群のヘルパー CD4+ T 細胞を同定した⁵⁾。本総説では、MS と Th17 細胞に関する最近の知見を交えつつ、主に同研究について紹介する。

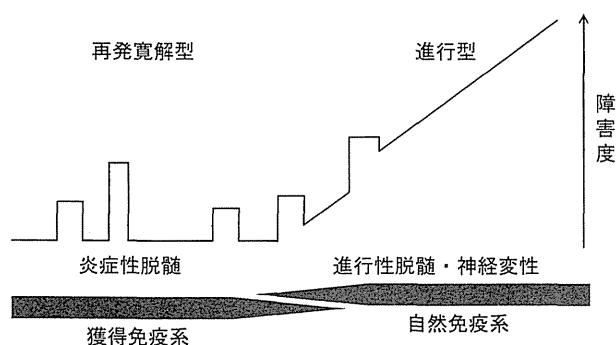


図 1 多発性硬化症の経過と自己免疫病態

多発性硬化症の最も一般的な臨床経過を示す。再発寛解型の時期は CD4+T 細胞を中心とした獲得免疫系の役割が大きいものに対し、進行型では、自然免疫系の役割が重要と考えられている。再発には CD4+T 細胞が関与することが、さまざまな観点から支持され、CD4+T 細胞をターゲットにした治療薬の開発が進められてきた。

ヘルパー T 細胞のケモカイン受容体

ケモカインシステムは、サイトカインの一種であるケモカインが対応するケモカイン受容体発現細胞に結合し、細胞内シグナル伝達を通して細胞遊走のみならず、細胞活性化や増殖など、さまざまな機能修飾を行う生体に不可欠な情報伝達系である⁶⁾。CD4+ T 細胞は分化の過程でケモカイン受容体の発現を変化させることが知られている。ナイーブ CD4 陽性 T 細胞は CCR7 陽性でリンパ節中に存在するが、抗原提示細胞による活性化とともに CCR7 の発現を失い、エフェクターとなる。またメモリー CD4+ T 細胞は、CCR7 陽性の Central Memory と CCR7 陰性の Effector Memory に二分できる⁷⁾。Th0 細胞が Th1 細胞や Th2 細胞などサブセットに分化するとき、炎症性ケモカイン受容体を発現する (図 2)。その際、それぞれのサブセットごとに発現する受容体が異なる。例えば Th1 細胞は CXCR3 や CCR5 を発現しやすく、Th2 細胞は CCR4 や CRTh2 を発現する傾向がある^{8,9)}。2005 年頃、Th1・Th2 細胞から独立した系列の細胞集団として Th17 細胞の存在がマウスで確認されたが、当初 Th17 細胞を特徴づけるケモカイン受容体は明らかではなかった。著者らは CCR2 と CCR5 の二つのケモカイン受容体の発現を調べ、CCR2 陽性かつ CCR5 陽性細胞が IFN γ の産生能が高いのに対し、IL-17 産生能が高い分画が CCR2 陽性かつ CCR5 陰性の分画に存在することを見出した。同細胞は Th17 の増殖や維持に重要な IL-23 の受容体を高発現し、転写因子 T-bet の発現が低いなど、Th1 細胞と異なる特徴を示し、ヒト Th17 細胞のマーカーとなりうると考えられた¹⁰⁾。ほぼ同時期に別のグループから Th17 細胞が CCR6 陽性 CCR4 陽性分画に存在することが報告された¹¹⁾。複数の研究をまとめると、Th17 細胞に限定的に発現するケモカイン受容体は存在しないが、CCR6 陽性細胞の中に Th17 細胞が含まれることは確実である¹²⁾。実際、CCR2 陽性 CCR5 陰性細胞の大部分は CCR6 陽性分画に含まれる。その後研究が進み、Th17 細胞は自己免疫病態に対する「病原性」が不均一な集団であることがわかってきた。マウスとヒトでは異なる部分もあるが、IL-23 や IL-1 β など炎症性サイトカインの関与により、生理的な Th17 細胞とは異なる IL-17 産生細胞が誘導される。すなわち、T-bet を発現し IL-17 とともに IFN- γ や Granulocyte Macrophage Conlony-Stimulating Factor (GM-

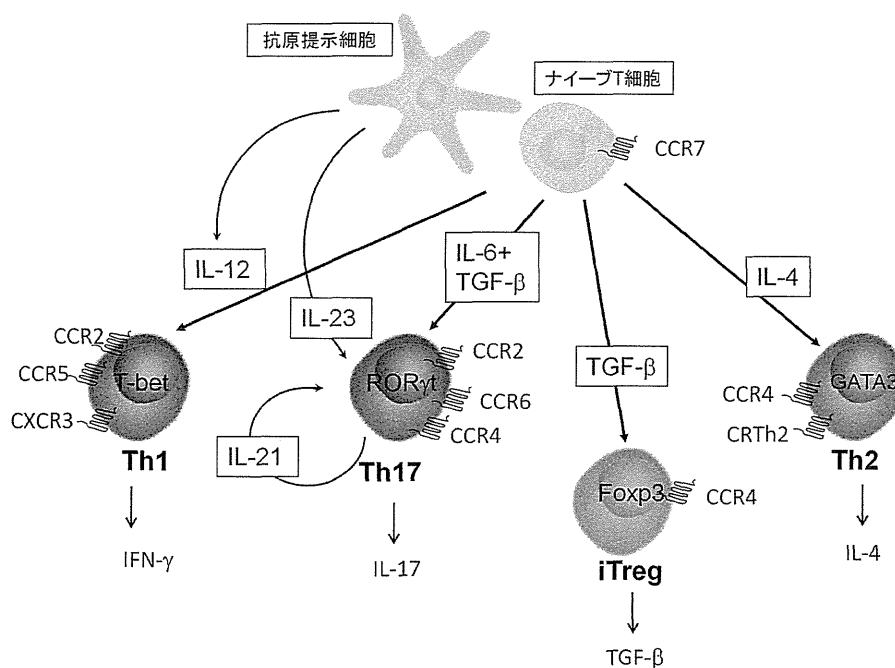


図2 ヘルパー CD4+T 細胞の分化とケモカイン受容体の発現

ナイーブ CD4+T 細胞が各サブタイプへ分化する際、ケモカイン受容体の発現が変化する。各サブタイプごとに発現しやすいケモカイン受容体は決まっている。ただし厳密な対応があるわけではなく、重複も多い。

CSF) の産生が高く、EAE 誘導能が高い Th17 細胞であり、「病原性」Th17 細胞と呼ばれている¹³⁻¹⁵。最近ヒトの「病原性」Th17 細胞について興味深い報告があった¹⁶。CCR6 陽性 CXCR3 陽性 CCR4 陰性細胞の一部にトランスポーター MDR-1 (ABCB1, P-glycoprotein) を発現する細胞があり、その遺伝子発現はマウスの「病原性」Th17 細胞の遺伝子発現とよく一致した。同細胞はクローン病の病変部に集積しており、またステロイドに抵抗性の細胞であると報告している。

Th17 研究と MS 病態

MS の病態における Th17 細胞の役割について、様々な報告がある。以下に代表的な研究を紹介する。MS の中枢神経病理組織の検討では、CD4 陽性および CD8 陽性 IL-17 陽性細胞が病変部に存在することが示されている¹⁷。また CD4 陽性 T 細胞中におけるサイトカイン産生細胞の割合について末梢血と脳脊髄液 (cerebrospinal fluid: CSF) とを比較した検討では、再発期 MS では Th1 細胞、Th17 細胞の両者が CSF 中での割合が増加していた¹⁸。ただし絶対数については CSF 中の Th17 細胞は Th1 細胞より一桁程度少なかった。また、再発期 MS 患者の CSF から Th1 細胞ラインと Th17 細胞ラインを樹立して解析したところ、Th17 細胞ラインは Th1 細胞ライ

ンよりも、接着因子 MCAM/CD146 の発現・活性化能・増殖能が高く、病原性が強い可能性が示唆された。

MS の再発時、脳炎惹起性の T 細胞が血液脳関門 (Blood Brain Barrier: BBB) を通過し脳実質内へ浸潤する段階が重要である¹⁹。将来 MS になる可能性をもつ CIS (clinically isolated syndrome) 患者の CSF を用いた検討で、Th17 細胞を含む CCR6 陽性 T 細胞の頻度が CSF 中では末梢血に比べて増加し、CCR6 のリガンド CCL20 が脈絡叢に発現していることから、Th17 細胞が脈絡叢から脳内に浸潤するとしている²⁰。in vitro BBB モデルを用いた別の解析で、IL-17 産生 IL-22 産生細胞が、Th1 細胞や IL-22 陰性細胞より BBB モデルの通過能が有意に高いことが示された。この IL-22 産生性 Th17 細胞は、細胞障害性因子 GranzymeB を有し、血管内皮細胞を障害・浸潤する能力が高かった²¹。また別の研究では抗原提示細胞の役割について検討を行い、BBB モデルを通過した単球が Th17 細胞の分化・誘導能を獲得するとしている²²。このように、Th17 細胞は MS 病態に関与し、Th1 細胞に勝る BBB 通過能を有する可能性が示されている。しかし、上述したように、CSF 中の Th17 細胞数は Th1 細胞より少ないこと、髄鞘抗原特異的 Th1 細胞が MS 患者で検出できること、IFN- γ で MS が悪化することなどが

ら Th1 細胞の関与は確実で、むしろ Th17 細胞単独での病原性についてはいまだ明確ではないといえる。

MS における T 細胞ケモカイン受容体

著者らは、MS 病態における Th17 細胞の役割を検討する目的で、Th1 細胞や Th17 細胞の同定に役立つ 4 種の炎症性ケモカイン受容体、CCR2, CCR4, CCR5, CCR6 の発現を個々の細胞についてフローサイトメーターで調べ、どのようなケモカイン受容体の組み合わせが疾患と関連して増加あるいは減少しているかを調べた (図 3 A)。例えば「CCR2+CCR4-CCR5+CCR6- 細胞」について、メモリー CD4 陽性 T 細胞を分母としてその頻度をもとめ、健常コントロールと MS 患者とを比較した。再発期や寛解期の MS 患者の末梢血中の個々の分画の頻度は、健常コントロールや疾患コントロールと比較し有意な差はみられなかった (図 3 B)。MS の再発期、脳に侵入するリンパ球が脳脊髄液中に集積していると考えられる。そこで、再発寛解型 MS 患者の再発入院時の CSF と末梢血の T 細胞ケモカイン受容体発現を調べ、CSF 中に増加している分画がないか検討を行った (図 4)。既報告通り、CCR5 陽性細胞はコントロール疾患も含め、CSF 中に集積を認めた²³⁾。これは同細胞が生理的に中枢神経系の免疫監視 (サーベイランス) を行っているためと考えられる。一方 Th17 細胞を含む CCR2+CCR5-, CCR4+CCR6+, あるいは CCR6+ 細胞の頻度は脳脊髄液中に有意な増加は認めず、既報告²⁰⁾ とは異なる結果であった。ところが、コントロールの疾患では増加が見られないが MS 患者で増加している分画が 1 つだけ見つかった。CCR2+CCR5+ 分画である。疾患特異的に増加していることから、再発に関わる可能性が考えられた。

CCR2+CCR5+ 細胞の血液脳関門通過能

CCR2+CCR5+ 細胞のサイトカイン産生能については、IFN- γ , IL-17 の両者を産生することが産生蛋白の ELISA による解析で明らかとなり、細胞内サイトカイン染色の結果、IL-17 産生細胞の大部分は IFN- γ を産生する二重産生細胞であった。すなわち CCR2+CCR5+ 細胞は Th1, Th17 細胞の両者を含むと考えられたが、同細胞をさらに CCR6 の有無で分けて解析したところ、MS 患者の CSF 中に増加していたのは CCR6 陰性、すなわち Th17 細胞以外の細胞であった。サイトカイン産生能や転写因子の解析

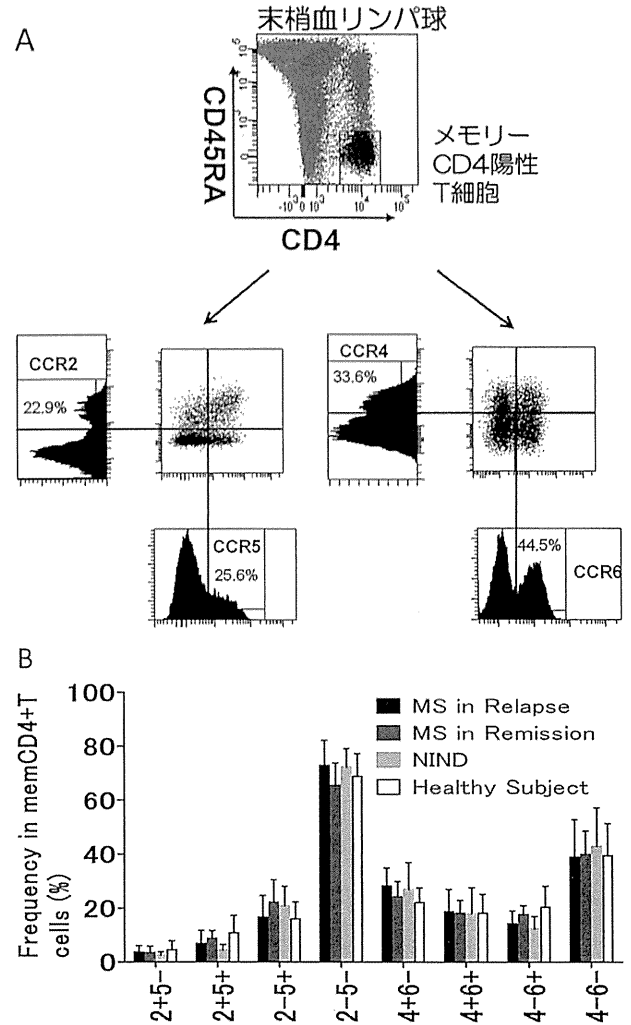


図 3 末梢血ケモカイン受容体陽性細胞の頻度 (文献 5 より引用改変)

- A 健常者の末梢血を採取し、メモリー CD4⁺T 細胞における CCR2, CCR4, CCR5, CCR6 の発現をフローサイトメトリーを用いて測定した。
- B 末梢血中の各ケモカイン受容体陽性細胞の頻度は疾患や再発の有無によらず、変化しない。CCR を省略し例えば CCR2+CCR5- は「2+5-」と表示した。
MS in Relapse: 再発時 MS, MS in Remission: 寛解期 MS, NIND: 非炎症性神経疾患, Healthy Subject: 健常者

から同細胞が Th1 細胞の特徴をもつ細胞であることがわかった。すなわち、MS の再発期、CSF 中に集積しているのは CCR2+CCR5+CCR6-Th1 細胞であると考えられた。MS における自己抗原の候補である髄鞘蛋白ミエリン塩基性蛋白 (Myelin Basic Protein: MBP) に対する反応性を調べたところ、再発期 MS 患者から得られた CCR2+CCR5+Th 細胞でのみ、MBP 反応性に IFN- γ を有意に多く産生することが分かった。しかし IL-17 については反応性の産生を認めず、再発と関連するのは Th17 細胞ではなく Th1 細胞であることを示唆する結果であった。

既述のように MS の再発には、末梢血中のリンパ

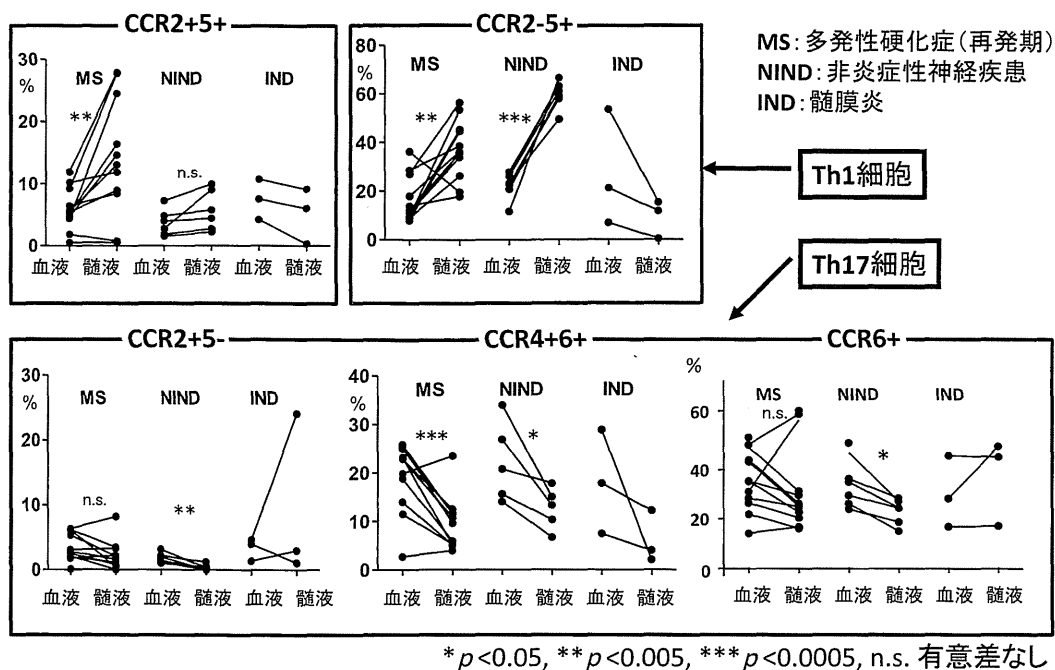


図4 脳脊髄液と末梢血におけるケモカイン受容体陽性細胞の頻度比較(文献5より引用改変)

再発期MS患者から得られた脳脊髄液と末梢血のメモリーCD4+T細胞中におけるケモカイン受容体陽性細胞をフローサイトメトリーで測定し、脳脊髄液中と末梢血中の頻度を比較した。同一患者のデータを線で結んで示す。

球がBBBを通過し脳内に侵入するメカニズムが重要である¹⁹⁾。そこで、BBB通過に関連する因子についての検討を行った。BBBは二枚の基底膜-血管内皮細胞およびアストロサイトのグリア限界膜からなる(図5A)。その構成成分TypeIVコラーゲンの分解酵素であるMatrix Metalloproteinase-9(MMP-9)は、BBBの破綻に重要な役割を果たすことが知られている。MMP-9はMSの再発期に脳脊髄液中で増加しIFN- β 治療により減少することが報告されている^{24,25)}。CCR2+CCR5+T細胞は活性化すると、MMP-9の高発現を示し、高いコラーゲン分解能を持つこともわかった。Osteopontin(OPN)は炎症に関わる多機能性蛋白で、MS病巣での高発現やEAEにおける強い炎症惹起能が示されている²⁶⁾。CCR2+CCR5+細胞は活性化によりOPNの高発現を認めた。

CSF中に集積している同細胞が、中枢神経実質に浸潤するためには、アストロサイトの足突起が形成するグリア限界膜を通過する必要がある。そこで、グリア限界膜に発現するラミニンとアストロサイト培養細胞からなるBBBモデルを作成しトランスウェルを用いて細胞遊走能を評価した。活性化した同細胞は、他の分画の細胞と比較し有意にBBB通過能が高いことが分かった。

以上から、CCR2+CCR5+Th細胞はMSの再発時

に脳脊髄液中に集積しているだけでなく、血液脳関門を通過しやすく、再発の際に真っ先に脳内に侵入して炎症を誘導する能力を持った細胞であることが推察された(図5B)。

考 察

CCR2+CCR5+細胞のように2つのケモカイン受容体を同時に発現している細胞は、単独の受容体発現細胞と質的に異なる細胞である可能性がある。

ZhangらはCCR5陽性細胞が繰り返し刺激を受けるとCCR2陽性となり、CCR2+CCR5+T細胞となるモデルを提出している²⁷⁾。同細胞はT細胞受容体刺激に対する高い感受性をもち、サイトカイン産生能・遊走能・生存能(アポトーシス抵抗性)に優れた細胞であると報告している。これらの特徴は、再発を繰り返すMSという慢性疾患において繰り返し自己反応性に活性化して炎症近傍に集積してくるCCR2+CCR5+細胞の特徴として矛盾しない。

ケモカイン受容体は一般に二量体(dimer)やOligomerを作るがCCR2とCCR5がヘテロ複合体を作ること、ヘテロ複合体はホモ複合体と比較しケモカインに対する感受性が高いことがすでに2001年に報告されている²⁸⁾。下流のシグナル伝達が、ヘテロ複合体では異なることなど知見が蓄積されてきており²⁹⁾、ケモカイン阻害療法が効果を発揮するた

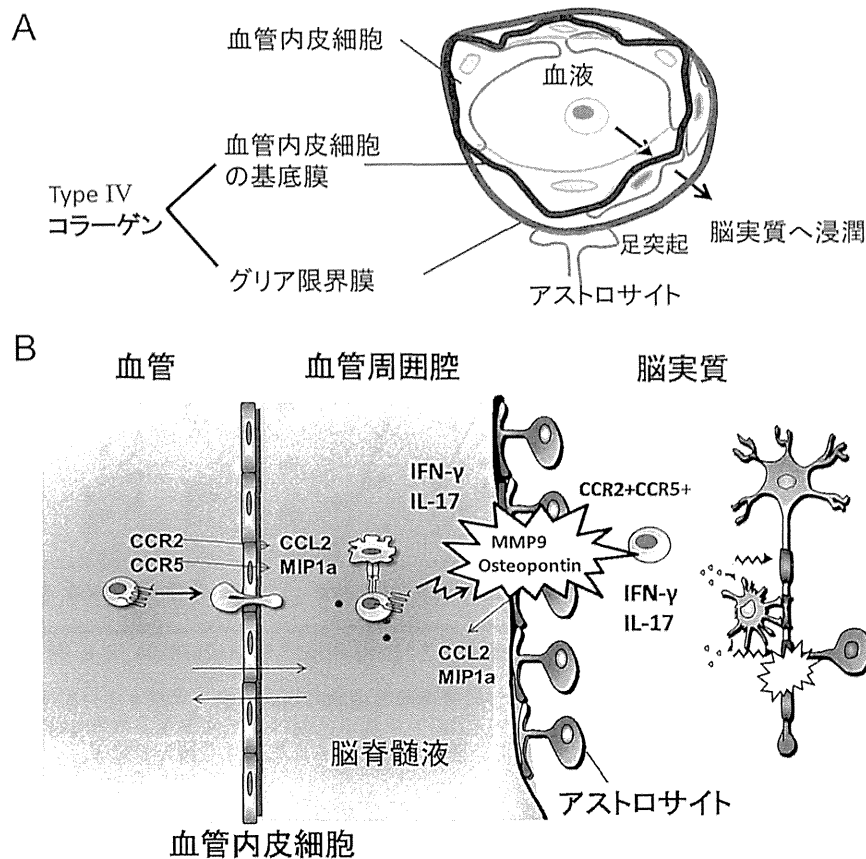


図5 血液脳関門と病原性リンパ球の侵入モデル

A 血液脳関門の模式図

血液脳関門の主たる構成細胞として、血管内皮細胞、アストロサイト、周皮細胞が重要である（周皮細胞については省略）。内皮細胞の基底膜とアストロサイトのグリア限界膜の二枚の基底膜がバリア機能を構成する。脳脊髄液は二枚の基底膜の「あいだ」にある。したがって脳脊髄液中のリンパ球は、血管内皮細胞をすでに通過した細胞で、これが脳実質内に入るためにはグリア限界膜を通過しなければならない。

B CCR2+CCR5+CD4+T 細胞の脳実質への侵入についてのモデル

CCR2+CCR5+細胞は、ケモカインの作用により脳脊髄液に集積し、血液脳関門で抗原提示細胞による抗原提示と活性化を受けると、IFN- γ やIL-17を産生するとともに、コラーゲンを分解するMMP-9や炎症惹起作用をもつOsteopontinを産生する。これらが血液脳関門に作用し、他のT細胞に先駆けて脳実質内に侵入することが想定される。

めには、ヘテロ受容体を標的とした治療戦略が必要である可能性が考えられる。

おわりに

再発寛解型MSの再発時にCSF中に集積している細胞として、CCR2+CCR5+T細胞を同定した。CCR2+CCR5+細胞はBBBを通過する分子メカニズムを有し、BBBモデルの通過能に優れており、再発時に重要な役割を果たす細胞であることが推察された。T細胞の複数のケモカイン受容体発現を調べる手法により、他の自己免疫疾患において病態に関わるT細胞分画を同定できる可能性がある。疾患のバイオマーカーとして、また治療ターゲットとして、「ケモカイン多重陽性」細胞の研究が有用である可能性があり、今後の発展が期待される。

文 献

- 1) McFarland, H.F., et al.: Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. *Nat Immunol.* **8**: 913-919, 2007.
- 2) Trapp, B.D., et al.: Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annu Rev Neurosci.* **31**: 247-269, 2008.
- 3) Weiner, H.L.: The challenge of multiple sclerosis: how do we cure a chronic heterogeneous disease? *Ann Neurol.* **65**: 239-248, 2009.
- 4) Sawcer, S., et al.: Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature.* **476**: 214-219, 2011.
- 5) Sato, W., et al.: CCR2+CCR5+ T cells produce matrix metalloproteinase-9 and osteopontin in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Immunol.* **189**: 5057-5065, 2012.

- 6) Mackay, C.R.: Chemokines: immunology's high impact factors. *Nat Immunol.* **2**: 95–101, 2001.
- 7) Sallusto, F., et al.: Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature.* **401**: 708–712, 1999.
- 8) Sallusto, F., et al.: Understanding dendritic cell and T-lymphocyte traffic through the analysis of chemokine receptor expression. *Immunol Rev.* **177**: 134–140, 2000.
- 9) Nagata, K., et al.: Selective expression of a novel surface molecule by human Th2 cells in vivo. *J Immunol.* **162**: 1278–1286, 1999.
- 10) Sato, W., et al.: Cutting edge: Human Th17 cells are identified as bearing CCR2+CCR5- phenotype. *J Immunol.* **178**: 7525–7529, 2007.
- 11) Acosta-Rodriguez, EV., et al.: Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat Immunol.* **8**: 639–646, 2007.
- 12) Singh, S.P., et al.: Human T cells that are able to produce IL-17 express the chemokine receptor CCR6. *J Immunol.* **180**: 214–221, 2008.
- 13) Lee, Y., et al.: Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat Immunol.* **13**: 991–999, 2012.
- 14) Ghoreschi, K., et al.: Generation of pathogenic TH17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature.* **467**: 967–971, 2010.
- 15) Peters, A., et al.: The many faces of Th17 cells. *Cur Opin Immunol.* **23**: 702–706, 2011.
- 16) Ramesh, R., et al.: Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are refractory to glucocorticoids. *J Exp Med.* **211**: 89–104, 2014.
- 17) Tzartos, J.S., et al.: Interleukin-17 Production in Central Nervous System-Infiltrating T Cells and Glial Cells Is Associated with Active Disease in Multiple Sclerosis. *Am J Pathol.* **172**: 146–155, 2007.
- 18) Brucklacher-Waldert, V., et al.: Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain.* **132**: 3329–3341, 2009.
- 19) Engelhardt, B.: T cell migration into the central nervous system during health and disease: Different molecular keys allow access to different central nervous system compartments. *Clin Exp Neuromunol.* **1**: 79–93, 2010.
- 20) Reboldi, A., et al.: CC chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat Immunol.* **10**: 514–523, 2009.
- 21) Kebir, H., et al.: Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med.* **13**: 1173–1175, 2007.
- 22) Ifergan, I., et al.: The blood-brain barrier induces differentiation of migrating monocytes into Th17-polarizing dendritic cells. *Brain.* **131**: 785–799, 2008.
- 23) Sorensen, T.L., et al.: Expression of specific chemokines and chemokine receptors in the central nervous system of multiple sclerosis patients. *J Clin Invest.* **103**: 807–815, 1999.
- 24) Leppert, D., et al.: Matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) is selectively elevated in CSF during relapses and stable phases of multiple sclerosis. *Brain.* **121** (Pt 12): 2327–2334, 1998.
- 25) Stuve, O., et al.: Interferon beta-1b decreases the migration of T lymphocytes in vitro: effects on matrix metalloproteinase-9. *Ann Neurol.* **40**: 853–863, 1996.
- 26) Chabas, D., et al.: The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease. *Science.* **294**: 1731–1735, 2001.
- 27) Zhang, H.H., et al.: CCR2 identifies a stable population of human effector memory CD4+ T cells equipped for rapid recall response. *J Immunol.* **185**: 6646–6663, 2010.
- 28) Mellado, M., et al.: Chemokine receptor homo- or heterodimerization activates distinct signaling pathways. *EMBO J.* **20**: 2497–2507, 2001.
- 29) Gouwy, M., et al.: Possible mechanisms involved in chemokine synergy fine tuning the inflammatory response. *Immunology Lett.* **145**: 10–14, 2012.

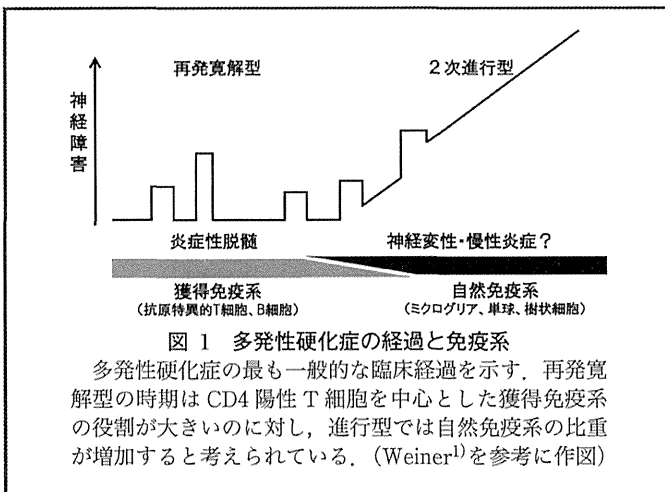
免疫動態

佐藤 和貴郎 山村 隆

はじめに

多発性硬化症 (multiple sclerosis ; MS) は、病変が脳・脊髄・視神経の様々な部位に (空間的多発) 繰り返し (時間的多発) おこることを特徴とする炎症性脱髄性疾患である。臨床的経過から、大きく「再発と寛解を繰り返す病態」と「進行性の病態」の二つに分類できる。免疫学的病態について、「再発期」には獲得免疫系による自己免疫性の炎症性脱髄が

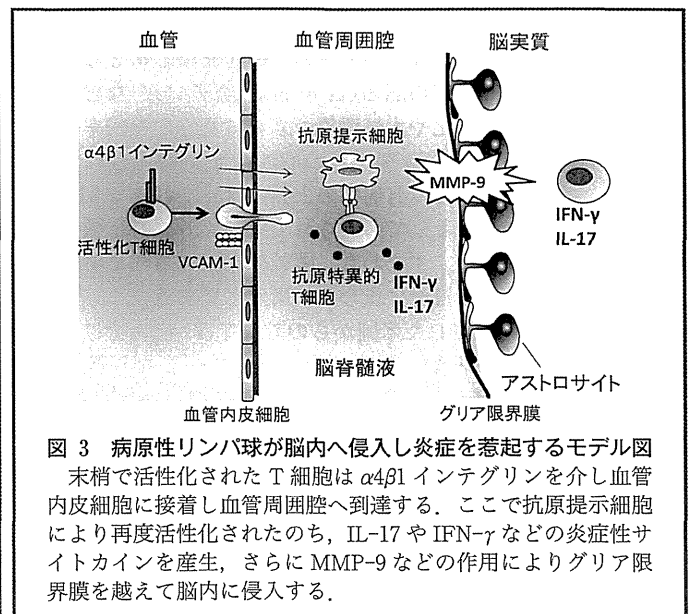
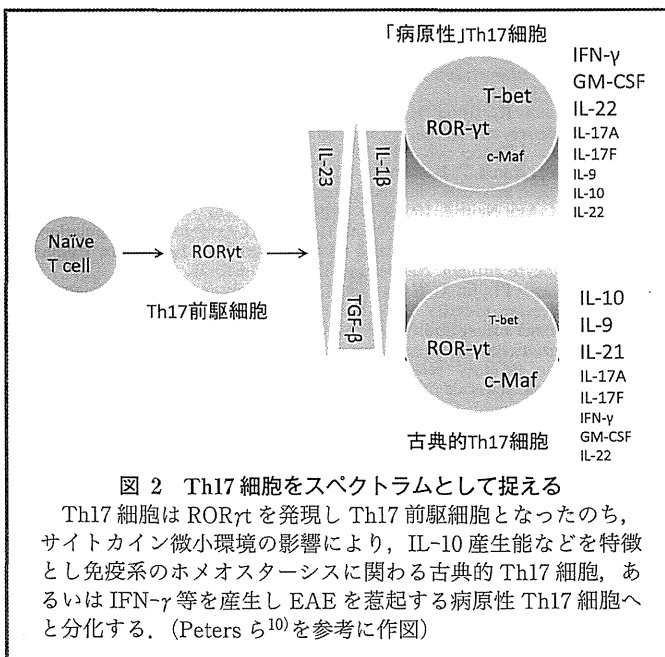
中心で、「進行期」は自然免疫系の関与が優位となり、炎症より神経変性が目立つというモデルが提案されている (図 1)¹⁾。このうち前者の「再発期」については近年理解が進み、再発抑制効果をもつ複数の免疫治療薬が臨床現場で用いられるようになった。一方、進行性の病態については未知の部分が多く「神経変性」や「慢性炎症」をキーワードに研究が進行中であるが、再発を抑制し疾患活動性を抑制することの意義は認識されている。疫学的に興味深いことは、従来アジア人に少なかった MS がわずかに数十年の間にわが国で確実に増加している点である。昨今の腸内細菌・腸管免疫系の研究の進歩により、食生活を含む環境因子と MS の関連性が明らかとなりつつある。本稿では、MS の代表的な動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis : EAE) の知見を述べながら、MS の病態に関与する免疫学的機序について概説する。



MS 発症の遺伝的背景

MS の一卵性双生児における同胞発症率は約 30% とさ

さとう わきろう (独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所/免疫研究部室長
やまむら たかし 同 部長



れ、発症には遺伝的背景が関与する。2011年に欧米人MS患者を対象とした疾患感受性遺伝子ゲノムワイド関連解析(GWAS)の結果が報告された²⁾。Major histocompatibility complex(MHC)クラスI・II分子、インターロイキン(IL)-2受容体、IL-7受容体の関与が再確認され、新たに29の新規感受性遺伝子が示された。その多くが1型糖尿病や炎症性腸疾患、関節リウマチと同様CD4陽性ヘルパーT細胞(helper T cells: Th cells)の機能に関わる遺伝子であった。すなわち獲得免疫系による自己免疫機序の重要性が改めて認識された。ただ、この研究は欧米白人の再発寛解型MS患者を対象にコモンバリエーションについて調べたものであり、レアバリエーションの関与やMSの多様性に寄与する遺伝子については今後の課題である。またアジアなど異なる地域の患者での検証が待たれる。

再発に関わる病原性T細胞は何か

MS研究はEAE研究とともに発展してきた。EAEはマウスなどの実験動物にミエリン塩基性タンパク(MBP)などの髄鞘抗原をアジュバント(免疫応答の増強剤)とともに接種(免疫)して中枢神経炎症を誘導する動物モデルである(active EAE)。髄鞘抗原に特異的に反応するCD4陽性Th細胞を動物に注射する方法でも神経炎症が誘導されることから(passive EAE)、病原性T細胞はTh細胞であるといえる。MS患者においてもミエリン塩基性タンパクに対し特異的に反応するT細胞が患者末梢血中に検出される。また、MS患者の中枢神経病理では、病変部に特定の限られた種類のT細胞クローンが集簇している。これはT細胞が抗原特異性をもつこと、すなわち特定の抗原を標的とするT細胞が病変部を形成していることを意味し、MS自己免疫説の重要なポイントである。なお、MSの病変部位で認められるT細胞の標的抗原は証明されていない。

Th17細胞の登場と研究の展開

1990年代以降、Th細胞はTh1/Th2細胞に二分されるドグマが支配的で、EAEを誘導するTh細胞はインターフェロンガンマ(IFN- γ)産生性のTh1細胞であると信じられてきたが、矛盾する結果も報告されていた。2003年、Cuaらの論文はこの問題に対し解決への道筋を与えた³⁾。Th1細胞の分化に重要なIL-12の欠損マウスでもEAEが誘導されたことから、EAEの誘導にはTh1細胞は必ずしも必要ではないことが示された。しかしIL-12に類似するIL-23の欠損マウスではEAEが発症しないことが示され、IL-23に注目が集まった。解析の結果、IL-23はTh細胞からのIL-17産生を介しIL-6、TNF- α 、GM-CSFなどの炎症性サイトカインを誘導することが示された。2006年に

は、IL-17産生T細胞がナイーブCD4陽性T細胞からIL-6とTGF- β の作用により分化誘導され、特異的な転写因子ROR γ tが同定され、Th1、Th2とは異なる第三のTh、Th17細胞として認知され、EAE/MSの発症のキーとなる細胞として注目された⁴⁾。髄鞘抗原特異的なTh17細胞とTh1細胞を比較すると、Th17細胞がTh1細胞よりも少ない細胞数でEAEをおこすと報告されたため、Th17細胞の病原性が広く認知された。しかし、意外にもIL-17遺伝子欠損マウスにおけるEAEの改善は軽度であることから、IL-17の作用が決定的ではないことも分かった⁵⁾。

Th17細胞に関する検討が進むとTh17細胞は一つの均一な細胞集団というより、「多様性」と「可塑性」をもつ細胞と捉えられるようになった。Th17細胞と免疫寛容の維持に重要な制御性T細胞(Treg)との関係について、FoxP3陽性細胞がTh17細胞に分化転換して(conversion)病原性細胞となりうること⁶⁾や、IL-17を産生しつつも抑制能を維持しているFoxP3陽性Tregの存在が報告された⁷⁾。一方、一般的にはTh1細胞が産生するIFN- γ の産生能を有するTh17細胞の存在も報告されている。マウスを用いた検討でEAEを発症する過程でIL-17A産生性の細胞がIFN- γ 産生性の細胞に分化転換し中枢神経に浸潤していた⁸⁾。また、再発期MS患者の末梢血中にはIFN- γ とIL-17の両者を同時に産生する細胞(Th1/Th17細胞)が増加しており、同細胞は血液脳関門(blood brain barrier: BBB)モデルを通過する能力が高いとの報告もある⁹⁾。様々な結果にもとづき、KuchrooらはTh17細胞をスペクトラムとして捉えることを提唱している(図2)¹⁰⁾。そのモデルではpre-Th17細胞の誘導後、TGF- β の作用が持続する場合はIL-10などを産生し、腸管免疫系のホメオスターシスに寄与する細胞(非病原性細胞)になるが、IL-23やIL-1 β が作用するとGM-CSFやIFN- γ 産生性の病原性タイプに分化しEAE誘導能を獲得するとされる。

Th17細胞の「発見」を契機として新たなThサブセットが次々と報告されている。IL-9産生を特徴とするTh9やIL-22産生が特徴的なTh22などである。興味深いことに、ThサブタイプによりEAEの病変分布が異なるという複数の報告がある。一例をあげると、in vitroで誘導されたTh17、Th1、Th2、Th9細胞をマウスに注射してEAEを誘導したところ、それぞれのEAEの発症様式や病変分布が異なっていた¹¹⁾。MSの病変分布には多様性が認められるが、Th細胞のサブタイプとMSの病変分布に何らかの関連がある可能性が考えられる。それと関連して、MSの再発予防薬として頻用されるIFN- β には無効例や悪化例があることが知られ、とくに視神経と脊髄に主病変をもつ視神経脊髄炎(neuromyelitis optica: NMO)では悪化例が

多く使用禁忌となっている。Steinman らは Th1 細胞で誘導した EAE は IFN- β 投与により軽減するのに対し、Th17 細胞で誘導した EAE は逆に IFN- β 投与により悪化することを示し、IFN- β は Th17 細胞の介在する自己免疫病態には無効ないし増悪因子となる可能性を指摘している¹²⁾。

リンパ球の中樞神経系への移行

病原性リンパ球が脳内へ到達するプロセスは以下のように考えられている。まず、リンパ節で活性化を受けたのち、リンパ節を出て血管内に移行する。次に、脳血管内皮細胞を越えて脳脊髄液中に移動する。その後、脳内へ侵入し神経炎症を惹起するという流れである(図 3)。病原性リンパ球の移動をブロックすると EAE/MS の病態を制御することができる。リンパ球が二次リンパ節から移出する際に必要な SIP1 受容体の発現を低下させる薬剤 fingolimod は EAE を軽減し MS の再発を抑制する。T 細胞が脳の血管内皮細胞に接着するのに必要な $\alpha 4\beta 1$ インテグリンに対する阻害抗体 natalizumab も EAE/MS に対し治療効果をもつ。fingolimod および natalizumab は MS の再発予防薬として臨床現場で使用されている。リンパ球が脳内に到達する前に立ちだかる最後の壁が、アストロサイトの足突起で構成されるグリア境界膜である。ラットの EAE の髄膜血管をライブイメージングにより詳細に観察した研究がある¹³⁾。活性化 T 細胞は抗原特異性に関係なく血管周囲腔へ到達するが、脳実質に到達できたのは抗原特異的 T 細胞に限られていた。脳脊髄液中で抗原提示細胞に遭遇し再度活性化されることが、T 細胞がグリア境界膜を越えるために必要であると結論づけている。なおリンパ球の移動には、ケモカインシステムや、膜を構成する基底膜を変性させるマトリックス・メタロプロテアーゼ 9(MMP-9)などのタンパク分解酵素も重要である。

腸内細菌と腸管免疫系

従来アジア人には少なかった MS がわずか一世代の間にわが国で著増していることから、環境因子の変化が疾患感受性を高めたと考えられる。MS の発症に関与する環境因子として、これまで精神的ストレス、高緯度地域、ビタミン D 不足、喫煙、Epstein-Barr (EB) virus 感染などの関与が報告されてきた。しかし、これらのリスクだけで発症頻度の増加を説明することは困難である。近年、腸管免疫に関する研究が進歩し、MS 病態への関与について検討が始まっている。非吸収性の抗生物質経口投与により全身の免疫系には影響を与えずマウスの腸内細菌の組成を変化させたところ、EAE が軽症化した¹⁴⁾。また、マウスの腸管の

常在菌である segmented filamentous bacteria が Th17 細胞誘導能をもち、この細菌がいないマウスではやはり EAE が軽症化した¹⁵⁾。自然発症で再発寛解型の脳脊髄炎を示す遺伝子改変マウスを用いた研究で、無菌環境下では脳脊髄炎が発症せず、腸内細菌を定着させると再び自然発症すると報告された¹⁶⁾。従って、MS において腸管免疫系が発症や経過に影響を与える可能性が示唆される。

自然リンパ球の役割

近年自然免疫と獲得免疫の橋渡しの細胞として、両者の特徴を兼ね備える innate lymphocyte (自然リンパ球: ILCs) に注目が集まっている。Natural killer (NK) 細胞の他、mucosal associated invariant T (MAIT 細胞) や iNKT 細胞 (invariant NKT 細胞) が代表的な ILC である。MS 患者の NK 細胞は寛解期には IL-5 を産生し、髄鞘抗原反応性 T 細胞に対し抑制的に働くことが報告されている¹⁷⁾。MAIT 細胞の T 細胞受容体の α 鎖は Va7.2 のみ、iNKT 細胞では Va24 と固定されており、抗原受容体の多様性が乏しい (invariant) 特徴がある。MAIT 細胞は腸管に多いことから名づけられた経緯があるが、血中にも数%以上認められる。MAIT 細胞は MS の病変部位で検出されるほか、患者の末梢血中での頻度低下が認められ病態と関連し変化する¹⁸⁾。EAE に対して抑制的な効果をもつことから MS 病態に対し制御性の機能が示唆される¹⁹⁾。長らく未知であった抗原がビタミン B2 の代謝物質であり腸内細菌が産生に関与することが最近報告された²⁰⁾。iNKT 細胞は糖脂質を抗原として認識し、抗原として同定された α -galactoceramide は強いサイトカイン産生能を誘導するが、改変体である OCH は IFN- γ などの Th1 サイトカインの産生は低く、IL-4 などの Th2 サイトカインを優位に産生し EAE を軽減する効果をもつ²¹⁾。OCH は経口投与での MS 病態の改善効果が期待され、現在筆者の施設で医師主導の臨床試験が進行中である。

炎症惹起性および炎症制御性分子

2001 年、Steinman らのグループにより再発寛解型 MS の病巣に発現する遺伝子産物の網羅的解析の結果が報告された²²⁾。もっとも発現の高いグループの中に αB crystallin とオステオポンチン (osteopontin: OPN) が含まれ、病態への関与が検討された。OPN は色々な分子と結合し多様な機能を発揮する炎症惹起性分子であるが、T 細胞上の $\alpha 4\beta 1$ インテグリンに結合すると T 細胞活性化と抗アポトーシス作用を発揮する。再発時 MS 患者髄液での増加がみられ、再発への関与が疑われる。抗 $\alpha 4$ インテグリン抗体 natalizumab の作用機序の一つは OPN による T 細胞活