

免疫システムのセーフガード “制御性T細胞”

東京理科大学 薬学部 生命創薬科学科 准教授 はらだ よすけ
原田 陽介

はじめに

我々の体は免疫システムによって様々な感染症から守られている。この免疫システムは基本的に自己と非自己を区別し、非自己のみを攻撃するように構築されている。さらに非自己の中でも体に対して不都合なもの（病原体）を攻撃して、体にとって有用なもの（食物など）や特に問題のないもの（花粉など）に対しては攻撃しないようにコントロールされている。ただ、この基本設定を維持することは容易ではなく、もしも免疫システムが暴走し、自己を攻撃するようになれば、様々な自己免疫疾患を発症する。また、食物や花粉を攻撃するようになれば、その抗原に対するアレルギー反応が引き起こされる。この免疫システムの暴走を防ぐために中心的な役割を果たしているのが制御性T細胞（Regulatory T cell: Treg）である。そこで本稿ではTregの役割について我々の研究成果を含めて概説したい。

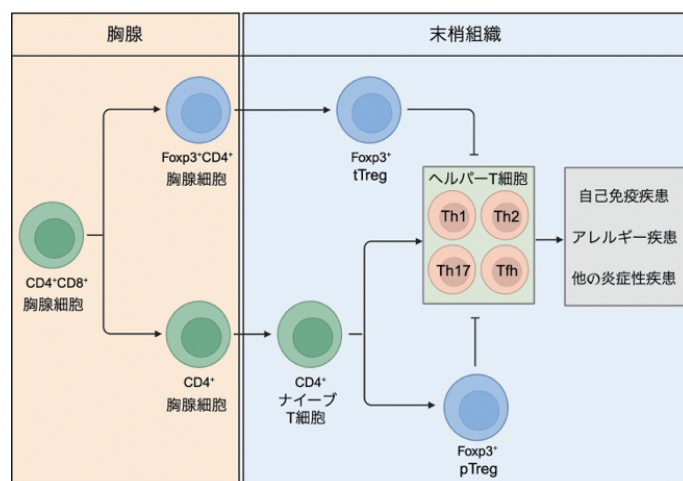
Tregのつくり方

全ての免疫細胞は骨髄にある造血幹細胞からつくられるが、T細胞の前駆細胞は分化の過程で胸腺という組織に移動して成熟していく。胸腺ではT細胞の抗原認識受容体であるT細胞レセプター（TCR）の遺伝子再構成が行われ、様々な抗原に対応できる多様なTCRがつくられる。しかしながら、この多様なTCRを生み出す遺伝子再構成はランダムな遺伝子組換えによって起こるため、多くの未熟T細胞は役に立たないTCRや自己の抗原に強く反応するTCRを発現することになる。特に自己抗原に強く反応するTCRを発現するT細胞は体にとって危険であるため、取り除かれなければならない。しかし実際には自己反応性T細胞を胸腺で完全に取り除くことはできず、体の中には自己反応性を有するT細胞が少なからず存在する。そこで、胸腺では自己抗原に対してある程度高い親和性をもったTCRを発現するT細胞の一部をTregへと分化させ、自己反応性T細胞が暴れ出すことを防いでいる【図1】。この胸腺でつくられるTregを胸腺由来

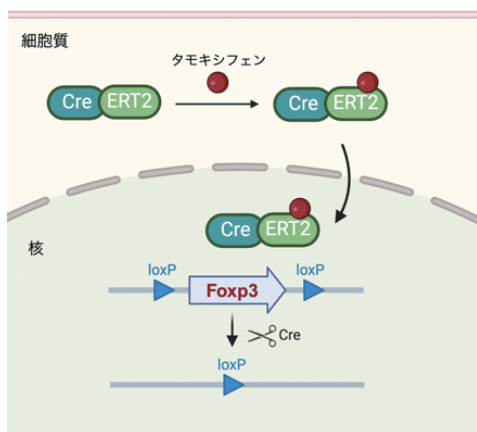
Treg（thymic Treg: tTreg）とよぶ。Tregにはもう一つ、胸腺で成熟したT細胞が末梢に出ていった後、抗原刺激を受けて分化する末梢由来Treg（peripheral Treg: pTreg）が存在する。pTregは腸管にもっとも多く、食物や腸内細菌由来の抗原によって誘導され、それらの抗原に対する免疫反応を抑制していると考えられている。これらのTregは様々な免疫抑制分子を細胞表面に発現（CTLA4など）したり、細胞外に分泌（IL-10など）することで、体にとって有害な免疫応答を制御している。

Foxp3欠損による免疫の暴走

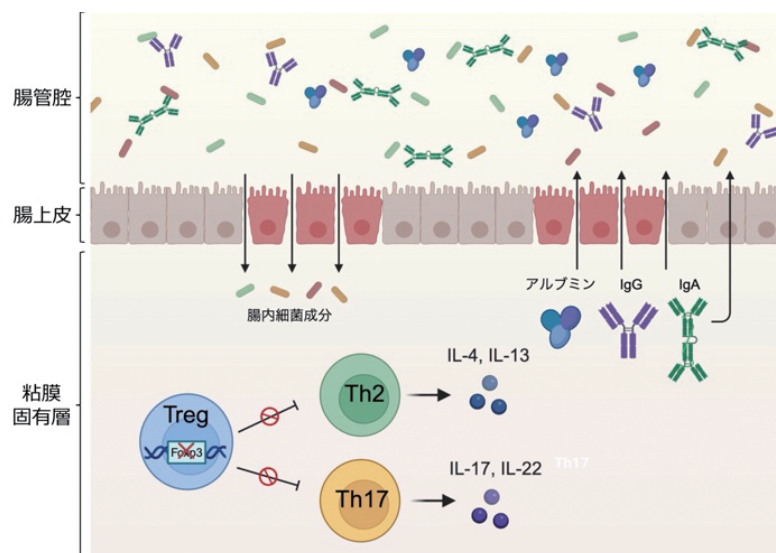
Tregは、Forkhead box protein 3（Foxp3）という転写因子を発現することで分化し、その機能を発揮する。Foxp3遺伝子に変異をもったヒトやマウスは、Tregを全くもたない、もしくは機能が障害されたTregを



【図1】 CD4⁺CD8⁺胸腺細胞は、TCR遺伝子の再構成によって様々な抗原に対応できる多様なTCRを発現している。胸腺細胞は胸腺内において自己ペプチドとMHCの複合体をTCRで認識し、自己に強く反応するTCRを発現した胸腺細胞、または自己ペプチドとMHCの複合体を認識できないTCRを発現した胸腺細胞は除かれる。一方で、自己ペプチドとMHCの複合体を弱く認識するTCRを発現した胸腺細胞は成熟し、CD4⁺ナイーブT細胞として末梢組織に移行する。CD4⁺ナイーブT細胞は抗原刺激を受けると様々な機能を持ったヘルパーT細胞に分化し、感染防御に働く。自己にある程度強く反応する胸腺細胞の一部は、Foxp3を発現し、胸腺由来制御性T細胞（tTreg）として末梢組織に移行する。また、末梢組織で抗原刺激を受けたCD4⁺ナイーブT細胞の一部はFoxp3を発現し、その抗原に特異的な末梢由来制御性T細胞（pTreg）に分化する。これらのtTregとpTregはヘルパーT細胞やその他の免疫細胞の活性化を抑制し、自己免疫疾患やアレルギー疾患の発症を防ぐ。



【図2】 Foxp3 遺伝子を2つの loxP 配列で挟んだマウスと CreERT2 を発現するマウスを交配し、Foxp3 cKO マウスを作製した。DNA 組換え酵素である Cre は、loxP 配列で挟まれた遺伝子領域を欠損させることができるが、Cre と ERT2 の融合タンパク質である CreERT2 は細胞質に留まり、ターゲット遺伝子の組換えを起こさない。タモキシフェンをマウスに投与するとタモキシフェンは CreERT2 の ERT2 領域に結合し、CreERT2 の核移行を誘導、loxP 配列の組換えを起こすことで Foxp3 遺伝子を欠損させる。



【図3】 一層の腸管上皮細胞で体内と隔てられた腸管腔には膨大な数の細菌が存在し、宿主と共生関係を維持している。この共生関係の維持には Treg による炎症の抑制や腸管腔に分泌される IgA 抗体による腸内細菌の制御が重要である。Foxp3 遺伝子の欠損により Treg が機能なくなると粘膜固有層に存在する Th2 や Th17 の異常な活性化が引き起こされ、その結果、上皮細胞による腸管上皮バリアが破綻する。上皮バリアの破綻により IgA 抗体だけでなく、IgG 抗体やアルブミンの腸管腔への漏出が起こり、これらの抗体の腸内細菌への異常な結合が起こる。この異常な結合は腸内細菌叢の構成異常を引き起こす。また、上皮バリア破綻により腸内細菌成分が体内に流入し、さらに炎症は悪化していく。

もつため、様々な臓器（甲状腺、脾臓、腸、腎臓など）に重篤な自己免疫性炎症疾患を発症する。また、食物アレルギーやアトピー性皮膚炎などの重度のアレルギー症状も呈する。Foxp3 遺伝子に変異をもつ IPEX 症候群の患者は未治療の場合、生後2年以内に死亡する。同様に、Foxp3 遺伝子に変異がある、もしくは Foxp3 遺伝子を欠損しているマウスも生後1ヵ月ほどで炎症性疾患により死亡する。Foxp3 ノックアウトマウスが生後まもなく死亡してしまうという事実は、Treg の機能を成熟した大人のマウスで解析することを困難にしてきた。そこで我々は Foxp3 遺伝子を時期特異的に欠損させるシステム（Foxp3 cKO マウス）を構築することにした。このマウスではタモキシフェンを投与することで、Foxp3 遺伝子を欠損させることができる【図2】¹⁾。

生後2-3ヵ月の成体マウスにタモキシフェンを投与して、Foxp3 遺伝子を欠損させたところ、アレルギーの発症に寄与する IgE の自発的な産生亢進が観察された^{1,2)}。この IgE の一部は食餌抗原であるグルテンに対するものであった。また、自己免疫疾患の原因として知られる2本鎖 DNA やヒストンに対する自己抗体も増加していた。抗体産生にはヘルパー T 細胞の一種である濾胞性ヘルパー T 細胞 (T follicular helper cell: Tfh) と胚中心 B 細胞 (germinal center B cell: GCB) の相互作用が重要であることが知られているが、このマウスではこれら Tfh と GCB の割合が増加していた。以上の結果は、Foxp3⁺ Treg が成体マウスにおいて常に

病的な抗体がつくられるのを抑制し、アレルギー疾患や自己免疫疾患の発症を防いでいることを意味している。

Foxp3 遺伝子変異が原因である IPEX 症候群の患者の主症状の一つは炎症性腸疾患であるが、Foxp3 cKO マウスでも大腸に炎症がおこる。ヘルパー T 細胞には先ほど紹介した Tfh の他に Th1, Th2, Th17 とよばれるものが存在し、それぞれの細胞は産生するサイトカインや発現する転写因子により区別される。Foxp3 遺伝子を欠損させた結果、どのようなタイプの炎症が惹起されたのかを調べたところ、Th2 と Th17 細胞の増加とそれらが産生するサイトカインの産生亢進が観察された。また、この炎症の結果、腸管上皮バリアが破綻し、体内の抗体やアルブミンが腸管腔に漏出していることがわかった【図3】³⁾。腸管上皮バリアは、腸管腔の物質が自由に体内に侵入することを防いでおり、このバリアが破綻すると腸内細菌由来成分などが体に入り込み、腸の炎症を誘導する。その影響は腸にとどまらず、他の臓器の炎症性疾患につながるが示されている。つまり腸管上皮バリアを維持することが健康を維持するために極めて重要である。これまでの我々の研究から、Th2 が産生するサイトカインがバリア破綻に重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。Treg 異常により引き起こされる腸管上皮バリア破綻の詳細なメカニズムを明らかにすることで、バリア破綻を起点とする疾患の新たな治療戦略を確立することを目指して研究を進めている。

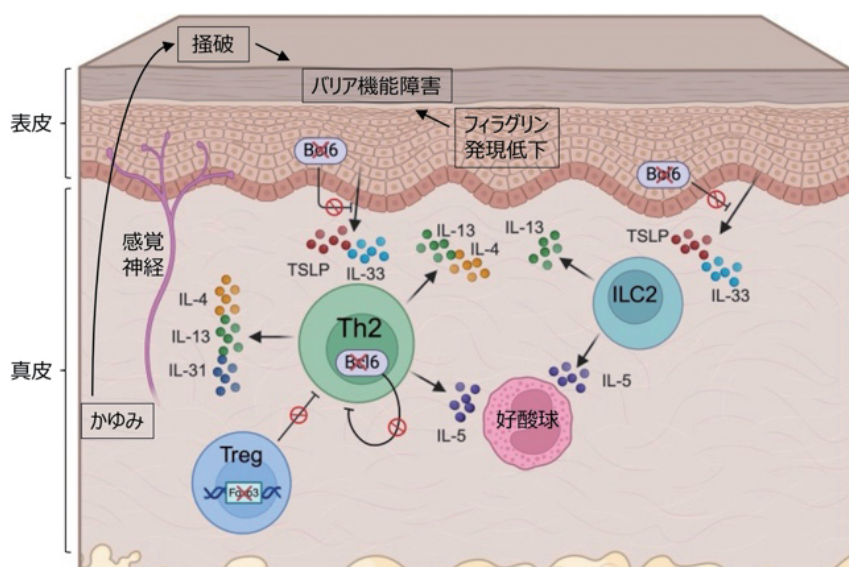
Foxp3 遺伝子に変異をもつヒトやマウスでは様々

なアレルギー症状が現れるが、我々の Foxp3 cKO マウスではアレルギー病態は自然発症しなかった。そこでアレルギー病態発症の抑制因子として知られる転写因子 Bcl6 を Foxp3 とともに成体マウスで欠損させたところ (Foxp3 Bcl6 cDKO マウス)、痒みを伴う皮膚炎を発症した。皮膚に浸潤している免疫細胞を調べたところ、アトピー性皮膚炎の発症に關与する Th2, 好酸球, 2 型自然リンパ球 (ILC2) の増加, それらが産生する IL-4, IL-5, IL-13 などのサイトカインの発現上昇が観察されたことから, この皮膚炎がアトピー性皮膚炎様のものであることが明らかとなった【図 4】^{4,5)}。アトピー性皮膚炎の患者の多くは, 血中 IgE 値が高いことが知られているが, Foxp3 と Bcl6 の二重欠損マウスも非常に高い血中 IgE 値を示した。そこでこの皮膚炎の発症に IgE が關与しているかを調べるために IgE を欠損させたマウスと交配したところ, IgE の欠損は皮膚炎の発症や病態に影響しなかった。この結果は IgE の阻害がヒトのアトピー性皮膚炎の治療に対してあまり効果的ではないという事実と一致している。一方で, IL-4 と IL-13 の共通のレセプターである IL-4R α 遺伝子を Foxp3, Bcl6 遺伝子とともに欠損させると, 皮膚炎の症状が大きく改善された。中等度から重度のアトピー性皮膚炎に対する治療は, 長い

間非常に困難であったが, IL-4R α をターゲットとした抗体医薬デュピルマブはアトピー性皮膚炎に対する治療効果が非常に高く, アトピー性皮膚炎の治療戦略を大きく変えた。以上のことから Foxp3 Bcl6 cDKO マウスで発症した皮膚炎はヒトのアトピー性皮膚炎の病態に非常に近いものであると考えられた。IL-4R α 遺伝子の欠損は Foxp3 Bcl6 cDKO マウスの皮膚炎に対して高い効果を発揮したが, 皮膚炎を完全には抑えることができず, 一部のサイトカイン産生は高い状態のままであった。デュピルマブによる治療効果が低いアトピー性皮膚炎の患者もいることから, 新たな治療法が求められている。IL-4R α の阻害に加え, このマウスの皮膚炎を完全に抑制できるような分子標的の組み合わせを明らかにできれば, その一助になるのではないかと考えている。

おわりに

本稿では, 我々の研究成果を中心に Treg の重要性について概説した。獲得免疫を担う T 細胞と B 細胞はその抗原認識受容体に 10 億以上の多様性をもち, 様々な病原体に対応することを可能にしている。一方で, この多様性は自分自身や体にとって必要な食物などの物質に対する攻撃を引き起こす危険性をはらんでいる。免疫系は様々な方法でそれらの危険を回避しているが, 今回紹介した Treg はその中でも極めて重要な役割を担っており, まさに“セーフガード”という名に相応しい。Treg の機能を強化することは自己免疫疾患やアレルギー疾患の治療に, Treg の機能を抑制することは癌の治療に役立つと考えられる。そのような人為的な Treg のコントロールには, Treg の役割や機能発現メカニズムの詳細な理解が必要であり, 我々はその一端を明らかにすることを目標としている。



【図 4】 Foxp3 遺伝子を欠損させると Treg による抑制がはずれ, 皮膚で T 細胞の活性化が起こる。同時に Bcl6 遺伝子が欠損すると Bcl6 による Th2 活性化抑制がなくなることで, T 細胞の活性化のバランスは Th2 へと傾いていく。Th2 は IL-5 を産生することで好酸球を活性化し, 皮膚の炎症を悪化させる。また, Th2 から産生される IL-4, IL-13 は表皮細胞に働いてフィラグリンの発現を低下させ, 皮膚のバリア機能を低下させる。さらに IL-4, IL-13, IL-31 は, 皮膚の感覚神経に作用し, かゆみを誘導する。かゆみによる掻破行動は, フィラグリンの発現低下とともに皮膚のバリア機能を障害し, 外界からのアレルギーの侵入を容易にする。皮膚のバリア機能が障害されると表皮細胞から TSLP, IL-33 が放出され, Th2 や自然リンパ球 ILC2 を活性化し, さらにこれらの細胞の活性化とサイトカイン産生を増強する。Bcl6 は表皮細胞で TSLP, IL-33 の産生を抑制しているが, Bcl6 の欠損でこれらのサイトカイン産生はさらに増加する。

【参考文献】

- 1) Tai Y, *et al.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 513, 787–793 (2019)
- 2) Tai Y, *et al.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 527, 909–914 (2020)
- 3) Koshida K, *et al.* Int. J. Mol. Sci. 24, 8549 (2023)
- 4) Tai Y, *et al.* Int. Immunol. 35, 423–435 (2023)
- 5) Kanemaru K, *et al.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 705, 149745 (2024)