
総 説

自然免疫システムの異常と疾患

田邊 剛

山口大学大学院医学系研究科環境統御健康医学分野(公衆衛生学) 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

Key words : 自然免疫, Toll-like receptors, Nod-like Receptors, クローン病, サルコイドーシス

和文抄録

自然免疫系は病原体の感染時に初期に応答する免疫システムである。当初、獲得免疫系が作動するまでの、一時的な免疫応答機構と考えられていた。しかし実際には自然免疫系の活性化の程度により獲得免疫系の機能が規定されることから、自然免疫系が免疫応答全般を制御する系とされている。

自然免疫因子は、菌体に共通する成分である pathogen-associated molecular patterns (PAMPS) をリガンドとして認識し、炎症性サイトカインを産生する。最近では生体の危険因子 danger-associated molecular patterns (DAMPS) のセンサーであることも明らかになっている。自然免疫因子は主に膜結合型の Toll-like receptor (TLR) と、細胞質局在型の nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor (NLR) から成る。

自然免疫系の異常が関連する疾患として、これまで NOD2 の機能低下による炎症性腸疾患クローン病、NOD2 の機能亢進による全身性肉芽腫形成疾患 Blau 症候群 (若年性サルコイドーシス) を報告した。さらに同じく全身性肉芽腫形成疾患サルコイドーシスの病因が、細胞内侵入型アクネ菌に対する変異型 NOD1 の応答不全によることを明らかにした。また NOD2 による骨髄系の血球分化の異常により骨髄性白血病の発症につながる可能性を報告した。

近年、IL-1 β の活性化をもたらす免疫複合体インフラマソームが注目されている。インフラマソーム

の活性化が糖尿病や動脈硬化など、生活習慣病を中心とした疾患の発症と関連することが明らかになっている。

自然免疫系の詳細が明らかになることで、有効で安全なワクチンの製造に理論的な裏付けが可能となった。さらに関連疾患に対して、自然免疫系の活性制御による新規治療法の開発が進められている。

自然免疫とは

自然免疫系は病原体の感染時に初期に応答する免疫システムである。当初、特異的抗体産生を行う獲得免疫系が作動するまでの、一時的な免疫応答機構と考えられていた。しかし実際には自然免疫系の活性化の程度により獲得免疫系の機能が規定されることが証明され、自然免疫系が免疫応答全般を制御する系であることが明らかとなっている。

自然免疫因子は、菌体に共通する成分であるリポポリサッカライド (LPS)、ペプチドグリカン (PGN) などの pathogen-associated molecular patterns (PAMPS) をリガンドとして認識し¹⁾、炎症性サイトカインを産生する。最近では病原体だけでなく、尿酸結晶やコレステロール結晶など、生体の危険因子 danger-associated molecular patterns (DAMPS) のセンサーであることも明らかになっている²⁾。

自然免疫因子は主に膜結合型の Toll-like receptor (TLR)³⁾ と、細胞質局在型の nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor (NLR) から成る⁴⁾ (図1)。NLRは、機能ドメイン、

重合ドメイン (NOD), リガンドを認識する Leucine rich repeat (LRR) の3つのドメインから構成される。機能ドメインとして Caspase recruiting domain (CARD) を持つ NLRC と, Pyrin domain を持つ NLRP が存在する (図1)。本稿では, NLR と疾患発症の関連について述べる。

活性化機構

NLRC はリガンドのない状況では, 重合ドメイン NOD がリガンド認識ドメイン LRR によって塞がれた構造をとる。LRR がリガンドを認識すると, NOD ドメインが解放され, NLRC 同士で重合する構造をとる。その結果, CARD が下流因子である receptor-interacting protein serine-threonine kinase 2 (RICK) と結合できる構造になり, さらに下流に活性化シグナルが伝わり, 炎症性サイトカインの産生につながる⁵⁾ (図2)。

関連疾患

クローン病

クローン病は炎症性腸疾患に分類され, 口腔から肛門までの全消化管に, 非連続性で慢性の肉芽腫を形成する疾患である。日本では動物性タンパク質や脂肪摂取の増加とともに近年増加傾向にあり, 患者数は約2万人以上である。

NLRC 中の NOD2 は炎症性腸疾患クローン病の遺伝子座と一致していた。遺伝子解析の結果, 欧米

の症例では, 3種の遺伝子変異 (一塩基置換 R702W, G908R と一塩基欠損による frame shift 変異 L1009fsInsC は frame shift の直後に終始コドンが現れ, 不完全長の変異 NOD2 になる) がクローン病の約10%と高頻度に存在することが明らかになった⁶⁾。この変異型 NOD2 を持つ場合, 健常人と比較したクローン病の発症リスクは, ヘテロサイゴートでは1.5~2倍, ホモサイゴートでは約40倍程度に増加する。このようにクローン病は, 自然免疫因子の異常が疾患の発症と関連することが明らかになった最初の報告である。

変異型 NOD2 の機能解析の結果, 3種の遺伝子多型は機能低下を示し, 特に不完全長 NOD2 のタイプは完全に活性を消失していた (図3)。当初, NOD2 は炎症性サイトカインを産生する機構であり, クローン病は炎症性腸疾患であるため, 遺伝子多型により機能が亢進することを予測していたため, 意外な結果であり, 自然免疫のパラドックスと呼ばれている。

現在, クローン病の発症機構は2種類を想定している。一つは NOD2 の機能低下により, 腸内細菌に対する初期の免疫応答が低下したために拡大した感染に対して, NOD2 以外の自然免疫システムが作動し, 炎症性サイトカインの産生を促進する機構である。もう一つは, NOD2 の機能として抗菌物質ディフェンシンの産生促進があるため, NOD2 の機能低下に伴うディフェンシンの低下により, 炎症性腸疾患を発症する機構である。

この3種類の NOD2 遺伝子多型はクローン病だけでなく, 大腸癌, 肺癌, 乳癌, アレルギーなどの他の疾患とも相関することが報告されている⁷⁾。

Blau 症候群, 若年性サルコイドーシス

全身性肉芽腫形成疾患サルコイドーシスの中で, 低年齢 (4歳以下) で発症し, 特異的な臨床経過をたどるタイプが存在し (肺門リンパ節腫脹を示さず, 皮膚炎, 関節腫脹, ブドウ膜炎を発症する), 若年性サルコイドーシス (early-onset sarcoidosis; EOS) と命名されている⁸⁾。また同様の臨床症状を示し, 常染色体優性遺伝形式をとる場合は Blau 症候群と呼ばれている⁹⁾。これらの疾患は自己炎症疾患として分類されている。

Blau 症候群の連鎖解析から, NOD2 の関与が想定

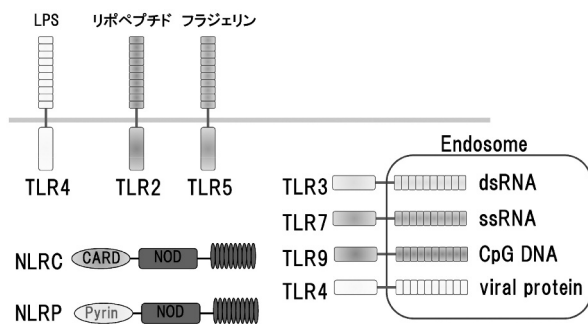


図1 自然免疫系因子

膜結合型の TLR と細胞質局在型の NLR が主な構成分子である。機能ドメインとして CARD を持つ NLRC と, Pyrin domain を持つ NLRP が存在する。

できたため、遺伝子解析を行ったところ、重合領域に集中した遺伝子変異を認めた (図3)。機能解析の結果、Blau症候群タイプのNOD2はリガンドのない状態でも常時活性化された状態であり、リガンドを認識するとさらに活性化が進むことを明らかにした (図2)¹⁰⁾。EOSにおいても同じ遺伝子変異が同定されたため¹¹⁾、現在では同一の疾患と認識されている。

サルコイドーシス

サルコイドーシスはクローン病と同様に難治性肉芽腫形成疾患である。特に肺門周囲リンパ節炎、皮膚炎、ブドウ膜炎など全身の諸臓器に類上皮細胞肉芽腫が形成される全身性の肉芽腫性疾患である。クローン病と同じ肉芽腫形成疾患であることから、NLRの異常との関連を想定し、遺伝子解析を行った。その結果、NOD1にアミノ酸変異を伴う遺伝子多型をサルコイドーシスに有意に認めた¹²⁾。機能解析の結果、サルコイドーシス型NOD1はクローン病と同様に機能低下を示した。そのため、自然免疫因子の機能低下により炎症性の肉芽腫形成疾患が発症する機序は共通した機構であることを想定した。

サルコイドーシスの原因菌については、欧米では結核菌が、本邦では*Propionibacterium acnes* (アクネ菌) が提唱されている。病変部位のリンパ節から細菌培養を行ったところ、細胞内に侵入するタイ

プのアクネ菌を同定した。サルコイドーシス型のNOD1は野生型と比較して、細胞内侵入型アクネ菌に対する応答性が約50%に低下していた。以上の結果から、サルコイドーシスの発症機序は、NOD1の機能低下による細胞内侵入型アクネ菌への応答不全であることを明らかにした。

骨髄性白血病

日本人集団で同定されたNOD2遺伝子多型について白血病、悪性リンパ腫、骨髄異形成症候群などの血液疾患との関連を解析した。その結果、急性および慢性骨髄性白血病との相関を認め、リンパ性白血病との相関は認めなかった¹³⁾。NOD2は骨髄球系の血液細胞の分化に関与することが報告されていることから、遺伝子多型により骨髄球系の分化異常が起こり、骨髄性白血病の発症につながったことを想定した。

インフラマソーム

近年、インフラマソームと名付けられた自然免疫系が注目されている。インフラマソームは自己炎症性疾患の解析から発見された。自己炎症性症候群は誘因が不明な炎症、高力価の自己抗体や自己反応性T細胞が無い、先天的な自然免疫の異常の3主徴によって定義され、Muckles Wells症候群、家族性寒冷自己炎症性疾患 (familial cold autoinflammatory syndrome : FACS)、クライオパイリン関連周期熱症候群 (cryopyrin-associated periodic syndrome

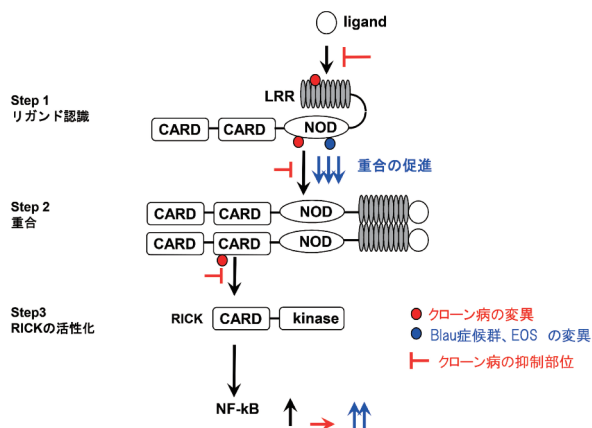


図2 自然免疫因子の活性化機構

LRRがリガンドを認識すると、NODドメインが解放され、NLRC同士で重合する。その結果、CARDが下流因子RICKと結合できる構造になり、さらに下流に活性化シグナルが伝わり、炎症性サイトカインの産生につながる。クローン病 (赤) では様々な箇所でもシグナルが抑制される。Blau症候群およびEOS (青) では、NOD領域の変異により重合が促進し、異常な活性化を引き起こす。

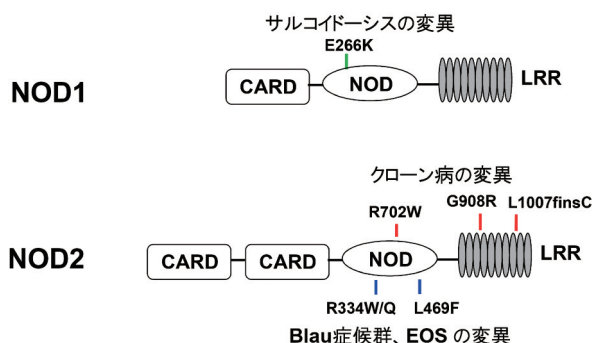


図3 クローン病, Blau症候群, EOS, サルコイドーシスの遺伝子変異

サルコイドーシスでのNOD1変異 (緑) と、クローン病のNOD2の3種の遺伝子変異 (赤) と、Blau症候群およびEOSでの変異 (青)。

: CAPS) などが含まれる。この自己炎症性疾患の原因遺伝子としてNLRP3が同定された¹⁴⁾。

NLRP3はpro-caspase-1とapoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruiting domain (ASC)とともに3分子から成るインフラマソームと呼ばれる免疫複合体を形成し、pro-caspase-1が活性化型に変化する(図4)。インフラマソームを形成させる刺激は細菌やウイルスの感染、菌体成分である細菌孔形成毒素、アスベストなどの環境汚染物質、ミトコンドリアからの酸化シグナルなど多岐にわたる。活性化したcaspase-1は、TLRやNLRCによってあらかじめ蓄積していたpro-IL-1 β やpro-IL-18を切断して活性化型に変換する。その活性化型IL-1 β やIL-18は炎症性サイトカインとして作用し、生活習慣病を中心とした様々な疾患の発症に関与する。特にII型糖尿病において膵島ではIL-1 receptor antagonistの発現が低下し、さらに β 細胞ではグルコースの上昇からインフラマソームが活性化してアポトーシスが起これ、病状が進行する機構が想定されている。このため臨床治験として、IL-1受容体拮抗薬であるアナキンラの投与による血糖異常の改善が報告されている¹⁵⁾。この他、アレルギーとの関連では、インフラマソームの活性化に伴う食物誘発アナフィラキシーやアスピリン喘息の増加が報告されている¹⁶⁾。また実験動物レベルでは、インフラマソーム活性の上昇に伴う動脈硬化や肝脂肪変性の促進が報告されていることから、脳血管障害や脂肪肝などの生活習慣病との関連が想定されている¹⁷⁾。

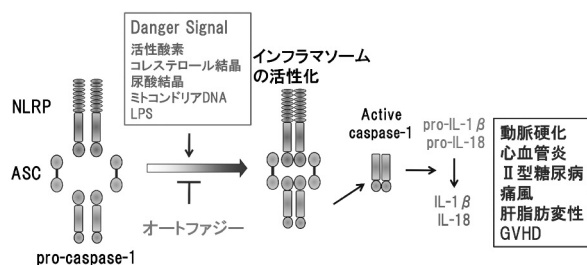


図4 インフラマソームの反応機構
Danger signalにより3種の構成因子が会合し、インフラマソームを形成してIL-1 β とIL-18を活性化し、生活習慣病の発症につながる。

移植片対宿主病Graft-versus-host disease (GVHD)

骨髄移植の成績に最も影響する因子の一つがGVHDである。さまざまな予防法が行われているが、骨髄移植後早期の死亡は10%近くに達し、急性GVHDが主な原因となっている。そのため新しいマーカーを発見することにより、あらかじめ重症の急性GVHDを予測して早期の予防策を講じたり、重症度が低くなる様にドナーとレシピエントの組み合わせを決定することが重要である。

骨髄移植の際にドナーから提供された骨髄細胞に含まれるT細胞は、レシピエントの腸管のパイエル板で感作される。NOD2の機能低下により消化管で細菌が増殖した状態下では、ドナー由来のT細胞は活性化される度合いが強く、レシピエントの組織を傷害して重症のGVHDの発症につながる。クローン病で同定された3種類のNOD2遺伝子変異がGVHDの重症度と相関することが報告されている¹⁸⁾。本邦の症例でも解析を行ったが、機能低下を示す遺伝子多型自体が存在しなかった。このことは本邦において欧米と比較して重症度GVHDの割合が低い一因である可能性がある。

今後の展開

自然免疫システムの今後の展開として、ワクチンへの応用や、活性の制御による新規治療法開発が想定されている。

ワクチンに関しては、自然免疫系の解析が進んだことにより、分子機構の裏付けに基づいた効果と安全性の高いワクチンの製造が可能になる。従来アジュバントとして安定性の点からDNA鎖が検討されてきたが、効果は不十分だった。その原因として、樹状細胞でのTLR発現の解析から、DNAのレセプターであるTLR9を発現する樹状細胞の種類が少ないことが明らかとなった。現在では多種の樹状細胞で発現するTLR3のリガンドであるRNAをアジュバントとして用いた免疫療法の成果が報告されている¹⁹⁾。

またTLR4の経路を介したアジュバント効果に関して、LPSの投与によりエンドトキシンショックが起こるが、他のTLR4アゴニストであるmonophosphoryl lipid A (MPL) はエンドトキシンショックを起こさず、臨床応用されている。自然

免疫系の解析により, LPSはTLR4の経路である Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN- β (TRIF) と myeloid differentiation factor 88 (MyD88) の両方の経路を介してインフラマソームを強く活性化することがエンドトキシンショックにつながるが, MPLはTRIFの経路にしか作用しないので, インフラマソームの活性化の程度が弱く, エンドトキシンショックを起こさないことが明らかにされている²⁰⁾.

活性制御による治療法については, 現在のところインフラマソーム関連疾患に対するIL-1受容体拮抗薬であるアナキナラの有効性が, II型糖尿病や関節リュウマチ, さらに自己炎症性疾患で明らかになっている²¹⁾.

このように, 効果を発現させるために活性化が必要な自然免疫因子の受容体, または安全性を高めるために不活性化が必要な受容体や経路を標的としてアゴニスト, アンタゴニストを合成することにより, 腫瘍ワクチン等による治療成績の向上につながると思われる。

引用文献

- 1) Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998; **282** (5396) : 2085-2088.
- 2) Scheibner KA, Lutz MA, Boodoo S, Fenton MJ, et al. Hyaluronan fragments act as an endogenous danger signal by engaging TLR2. *J Immunol* 2006; **177** (2) : 1272-1281.
- 3) Kirschning CJ, Wesche H, Merrill Ayres T, et al. Human toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1998; **188** (11) : 2091-2097.
- 4) Inohara N, Koseki T, del Peso L, Hu Y, et al. Nod1, an Apaf-1-like activator of caspase-9 and nuclear factor-kappaB. *J Biol Chem* 1999; **274** (21) : 14560-14567.
- 5) Inohara N, Koseki T, Lin J, del Peso L, et al. An induced proximity model for NF-kappa B activation in the Nod1/RICK and RIP signaling pathways. *J Biol Chem* 2000; **275** (36) : 27823-27831.
- 6) Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; **411** (6837) : 603-606.
- 7) Kurzawski G, Suchy J, Kładny J, Grabowska E, et al. The NOD2 3020insC mutation and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 2004; **64** (5) : 1604-1606.
- 8) O'Brien LE, Forsman PJ, Wiltse HE. Early onset sarcoidosis with pulmonary function abnormalities. *Chest* 1974; **65** (4) : 472-474.
- 9) Raphael SA, Blau EB, Zhang WH, Hsu SH. Analysis of a large kindred with Blau syndrome for HLA, autoimmunity, and sarcoidosis. *Am J Dis Child* 1993; **147** (8) : 842-848.
- 10) Tanabe T, Chamailard M, Ogura Y, Zhu L, et al. Regulatory regions and critical residues of NOD2 involved in muramyl dipeptide recognition. *EMBO J* 2004; **23** (7) : 1587-1597.
- 11) Kanazawa N, Okafuji I, Kambe N, Nishikomori R, et al. Early-onset sarcoidosis and CARD15 mutations with constitutive nuclear factor-kappaB activation: common genetic etiology with Blau syndrome. *Blood* 2005; **105** (3) : 1195-1197.
- 12) Tanabe T, Ishige I, Suzuki Y, Aita Y, et al. Sarcoidosis and NOD1 variation with impaired recognition of intracellular Propionibacterium acnes. *Biochim Biophys Acta* 2006; **1762** (9) : 794-801.
- 13) Tanabe T, Yamaguchi N, Matsuda K, Yamazaki K, et al. Association analysis of the NOD2 gene with susceptibility to graft-versus-host disease in a Japanese population. *Int J Hematol* 2011; **93** (6) : 771-778.
- 14) Aróstegui JI, Aldea A, Modesto C, Rua MJ, et al. Clinical and genetic heterogeneity among Spanish patients with recurrent autoinflammatory syndromes associated with

- the CIAS1/PYPAF1/NALP3 gene. *Arthritis Rheum* 2004 ; 50 (12) : 4045-4050.
- 15) Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2007 ; 356 (15) : 1517-1526.
 - 16) Hitomi Y, Ebisawa M, Tomikawa M, Imai T, et al. Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009 ; 124 (4) : 779-785.
 - 17) Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med* 2011 ; 17 (2) : 179-188.
 - 18) Holler E, Rogler G, Herfarth H, Brenmoehl J, et al. Both donor and recipient NOD2/CARD15 mutations associate with transplant-related mortality and GvHD following allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2004 ; 104 (3) : 889-894.
 - 19) Loré K, Betts MR, Brenchley JM, Kuruppu J, et al. Toll-like receptor ligands modulate dendritic cells to augment cytomegalovirus- and HIV-1-specific T cell responses. *J Immunol* 2003 ; 171 (8) : 4320-4328.
 - 20) Freytag LC, Clements JD. Mucosal adjuvants. *Vaccine* 2005 ; 23 (15) : 1804-1813.
 - 21) Reiff A. The use of anakinra in juvenile arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2005 ; 7 (6) : 434-440.

Impaired Innate Immune System and Diseases.

Tsuyoshi TANABE

Department of Public Health (Public Health), Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

SUMMARY

Fast immune responses are mediated by innate immune receptors that react against conserved structures in pathogens, named pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and endogenous danger-associated molecular patterns (DAMPs). PAMPs include lipopolysaccharides, peptidoglycan, and endogenous DAMPs include uric acid and cholesterol deposits. Innate immune system consist of two groups, toll-like receptors (TLRs) and nucleotide binding oligomerization domain (NOD) -like receptors (NLR). NLRs recognize pathogens in the cytosol. We have previously revealed that multiple genetic variants of NOD1 and NOD2, components of NLRs, are associated with susceptibility to several diseases. Notably, NOD2 loss-of-function and gain-of-function mutations showed susceptibility to Crohn's disease and Blau syndrome (early-onset sarcoidosis : EOS), respectively. Furthermore, we have revealed that impaired recognition of intracellular *Propionibacterium acnes* resulting from a polymorphism in the *NOD1* gene is involved in the increased susceptibility of Sarcoidosis in a Japanese population. Inflammasome, newly identified innate immune system, activates IL-1 β and causes several lifestyle diseases including diabetes mellitus and atherosclerosis. Manipulating the activities of innate immune factors may produce new therapy for lifestyle diseases.