

## 東洋医学を起点とした粘膜免疫の基礎的解明と病態制御への展開

國澤 純

独立行政法人医薬基盤研究所ワクチンマテリアルプロジェクト

東京大学医科学研究所

大阪大学大学院薬学研究科

Oriental Medicine-Initiated Examination of Mucosal Immune System for  
the Development of Mucosal Immunotherapy

Jun Kunisawa

Laboratory of Vaccine Materials, National Institute of Biomedical Innovation

The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

## 緒言

腸管にはユニークな免疫担当細胞が存在し、腸管組織における生体防御と恒常性維持を担っているが、著者らは、免疫細胞の遊走を制御するスフィンゴシン1リン酸 (S1P) が腸管免疫の制御、ならびに腸管での免疫疾患の発症に重要であることを示してきた。これらの解析において強力なツールとして機能したのが、冬虫夏草の一種であるツクツクボウシタケ菌 (*Isaria sinclairii*) を由来する FTY720 (フィンゴリモド) である。FTY720 は免疫担当細胞の遊走を制御することが知られていたが、その作用機序が S1P 受容体のダウンレギュレーションによることが判明したことで、S1P に関する学術情報の集積が飛躍的に進んだ。同時に創薬標的としての S1P の有効性も実証され、現在 FTY720 は多発性硬化症の経口治療薬として臨床的にも使用されている。本稿では、FTY720 を起点として得られた腸管免疫に関する知見と免疫学における漢方薬の有用性について最近の知見を含め概説したい。

## 生体防御と免疫学的恒常性の維持に働く腸管免疫

腸管は、多くの病原微生物の初発感染部位となっているが、同時に食餌性成分や共生細菌などの有益な非自己成分にも常に晒されている。そのため腸管には、病原体を認識・排除することで生体防御を担い、かつ

有益な異物に対し免疫寛容・無視を示すための独自の免疫システムが備えられている。これら腸管免疫系を介した免疫学的恒常性の破壊は、炎症性腸疾患や食物アレルギーに代表される腸管免疫疾患のリスクファクターとなりえる。これまでの研究から、腸管免疫の制御における脂質の役割が注目されている。

## 免疫遊走制御因子としてのスフィンゴシン1リン酸

スフィンゴシン1リン酸 (S1P) は、細胞遊走を制御する脂質メディエーターとして知られており、生体内ではセラミドの代謝物であるスフィンゴシンが、スフィンゴシンキナーゼによってリン酸化されることで産生される (図1)<sup>1</sup>。生体内においては、リンパ管において S1P が高濃度に保たれており「血液・リンパ管>リンパ組織」という濃度勾配が形成されている<sup>1</sup>。

一方、S1P 受容体としては、Gタンパク質共役型の受容体が5種類同定されている<sup>2</sup>。免疫担当細胞、特にリンパ球は1型 S1P 受容体 (S1P<sub>1</sub>) を強く発現しており、リンパ組織から血液、もしくはリンパ管中への細胞の移出を制御している。リンパ球は自らの活性化に伴い、S1P<sub>1</sub> の発現を一過的に低下させることで分化が完了するまでの間、リンパ組織の中に滞留できるようになる。

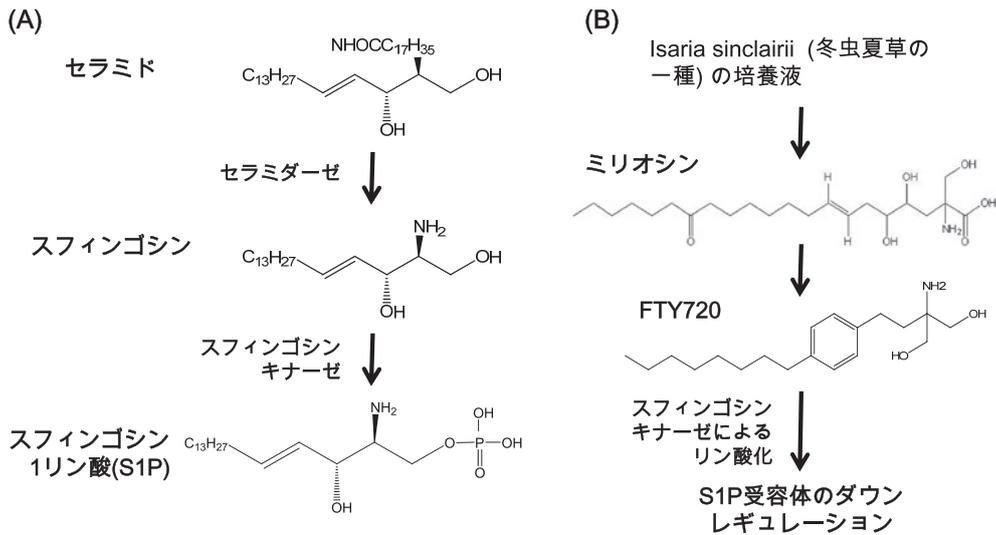


図1 スフィンゴシン 1リン酸と FTY720 の化学構造

(A) セラミドはセラミダーゼの働きによりスフィンゴシンへと代謝され、さらにスフィンゴシンキナーゼによりリン酸化されることでスフィンゴシン 1リン酸 (S1P) となる。S1P は5種類のS1P 受容体に作用することで様々な生理活性を示す。(B) 冬虫夏草の一種である *Isaria sinclairii* の培養液から発見されたミリオシンをリード化合物としてFTY720 は開発された。スフィンゴシンと同様、FTY720 は生体内においてスフィンゴシンキナーゼによりリン酸化され、S1P 受容体に結合することで、2型以外のS1P 受容体のダウンレギュレーションを誘導する。

### 冬虫夏草を起点とするスフィンゴシン 1リン酸 標的型の免疫抑制剤の開発

上記のS1Pに関する研究は免疫抑制剤であるFTY720の開発により飛躍的に進んだ。FTY720は冬虫夏草の一種であるツクツクボウシタケ菌 (*Isaria sinclairii*) に含まれるミリオシンをリード化合物として開発が進められ、現在、多発性硬化症に対する経口薬として承認されている(図1)<sup>3</sup>。FTY720はスフィンゴシンのアナログとして作用し、スフィンゴシンキナーゼによって生体内でリン酸化され、5種類のS1P受容体のうち2型S1P受容体以外に作用し、受容体のダウンレギュレーションを誘導する(図1)。リンパ球においては主にS1P<sub>1</sub>に作用し、リンパ組織からのリンパ球の移出を阻害することが免疫抑制作用の一つとして明らかにされている。

### 腸管免疫制御におけるスフィンゴシン 1リン酸の役割

著者らはFTY720を用い、腸管免疫制御におけるS1Pの役割に関する検討を行い、腸管IgA抗体の産生や上皮細胞間Tリンパ球の遊走におけるS1Pの機能を明らかにした(図2)<sup>4</sup>。

腸管において産生される分泌型IgA抗体は、腸管における感染防御分子として重要な役割を担っている<sup>5</sup>。小腸のパイエル板は腸管IgA産生細胞の主要誘導組

織として知られており、管腔抗原を取り込んだ樹状細胞とT細胞との相互作用を伴うB細胞の活性化により、IgA陽性B細胞へのクラススイッチが行われ、その後、多量体IgAを産生するIgA形質芽細胞まで分化する<sup>6</sup>。著者らはパイエル板内におけるB細胞の分化過程において、S1P受容体の発現が変化することでIgA陽性細胞のパイエル板内での滞留と移出が制御されていることを見だし、腸管でのIgA抗体産生において重要な制御因子としてS1Pが機能していることを報告した<sup>7</sup>。S1P<sub>1</sub>を発現するナイーブB細胞が抗原刺激を受け取りIgA陽性B細胞へと分化するとS1P<sub>1</sub>の発現は低下するが、その後、IgA陽性形質芽細胞へと分化が進むとその発現は回復し、パイエル板から移出できるようになる(図2)。そのため、FTY720を投与しS1P受容体のダウンレギュレーションを引き起こしたマウスにおいては、S1P受容体を発現するIgA陽性形質芽細胞のパイエル板内への集積が観察される。またこれらのマウスにおいては、経口ワクチンにより誘導されるワクチン抗原特異的分泌型IgA抗体の産生が低下することから、抗原特異的分泌型IgAの効果的な産生のためにはIgA陽性形質芽細胞のS1P依存的なパイエル板からの移出が必須であることが分かる<sup>7</sup>。またその他の主要腸管IgA産生細胞となる腹腔B細胞の腸管への遊走にもS1Pが関わっている<sup>8,9</sup>。

腸管免疫システムにおいては、B細胞だけではなく、T細胞も多く存在し独自の免疫学的機能を担っている。腸管上皮細胞層に存在する上皮細胞間リンパ球

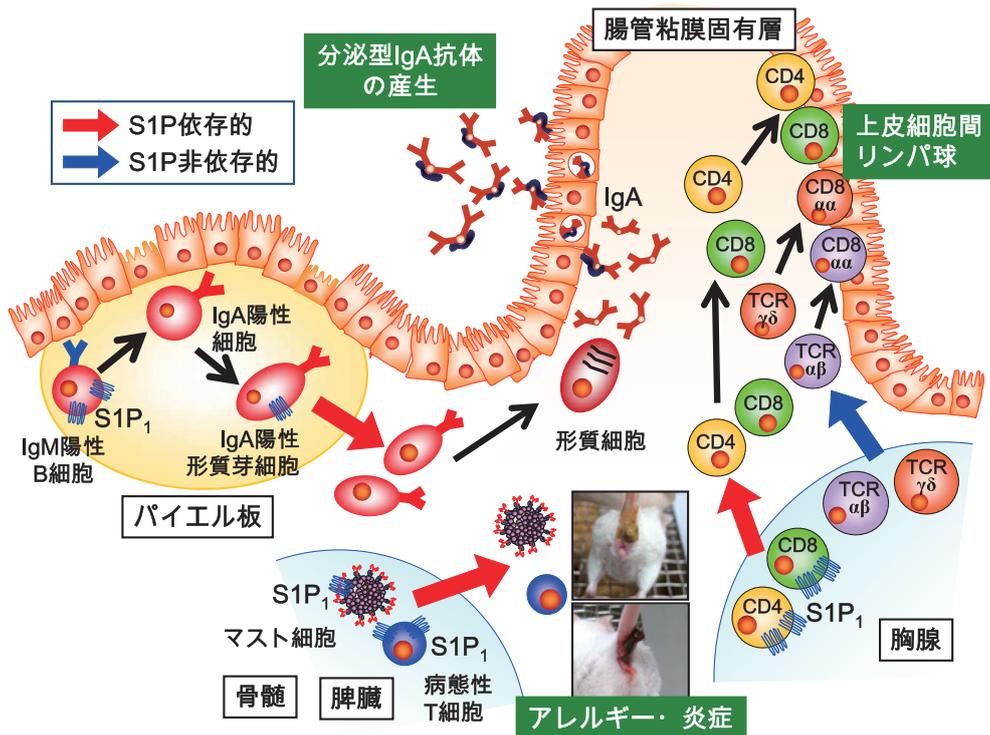


図2 スフィンゴシン1リン酸を介した腸管免疫の制御と疾患

腸管組織に点在するパイエル板は腸管での生体防御に働く分泌型IgA抗体の誘導組織として機能する。そこではB細胞のIgA産生細胞への分化が誘導されているが、B細胞は分化の過程で1型S1P受容体(S1P<sub>1</sub>)の発現を変化させることで、パイエル板での滞留と移出を制御している。一方、上皮細胞層に存在する上皮細胞間リンパ球は異なるS1P依存性を示し、CD8αβやCD4を発現する従来型のT細胞は、S1P依存性を示すのに対し、γδ型T細胞受容体(TCRγδ)発現細胞を含むCD8αα細胞はS1P非依存的に上皮細胞層へ遊走する。また代表的な腸管免疫疾患である食物アレルギーや炎症性腸疾患の発症に関わる病態性細胞の遊走にもS1Pは関わっており、治療標的の一つとして注目されている。

(IEL)には非古典的MHC分子を認識し自然免疫に関与するγδT細胞が多く観察される<sup>10</sup>。著者らは、IELのサブセットにより胸腺から腸管への遊走におけるS1P依存性が異なることを見いだした<sup>11</sup>。FTY720を投与したマウスの大腸IELにおいては、S1P依存的な集団であるCD4もしくはCD8αβを発現するT細胞の減少が確認されたが、IELに特徴的に観察されるγδT細胞を含むCD8αα発現細胞にはほとんど変化が認められなかった。その結果と相関するように、CD8αα発現細胞の前駆細胞の一つであるTCR発現ダブルネガティブ胸腺細胞はS1P非依存的に胸腺から移出し、腸管へ遊走していた(図2)<sup>11</sup>。これら異なるS1P依存性は腸管における免疫学的多様性をもたせるための一つの経路であると考えられる。

#### 腸管免疫疾患の発症因子としての スフィンゴシン1リン酸

ここ数十年の間にアレルギーおよび炎症性疾患の患者数は爆発的に増加してきている。環境要因を含む

様々な因子が免疫疾患の発症に関わっていることが示唆されているが、これまでの研究結果から、S1Pも腸管免疫疾患を引き起こす病態性細胞の遊走に関わっている。著者らは食物アレルギーモデルマウスを用いた解析から、食物アレルギーの発症におけるS1Pの関与に関する知見を得た<sup>12</sup>。本モデルは、ニワトリ卵白アルブミンの投与によりアレルギー性下痢を示すが、病態部位である大腸においてはアレルゲンの全身感作により活性化されたT細胞やマスト細胞が同一アレルゲンの経口投与に伴い浸潤している<sup>13</sup>。著者らは本アレルギーモデルを用いた検討から、食物アレルギーの誘導期間にFTY720を投与するとアレルギー性下痢の発症が抑制されており、大腸組織においては活性化T細胞やマスト細胞が減少していることを見いだしている<sup>12</sup>。すなわち食物アレルギーの発症においては、病態性T細胞とマスト細胞のS1P依存的遊走は病態形成において重要な過程であり、治療標的として有用であると考えられる。

またいくつかの炎症性腸疾患モデルを用いた検討から、食物アレルギーだけではなく炎症性腸疾患の発症

においてもSIPが関与していることが明らかとなっている<sup>14-16</sup>。例えば、IL-10欠損マウスは炎症性腸疾患を自然発症するモデルであるが、FTY720の投与により、IFN- $\gamma$ 産生病原性T細胞の大腸への浸潤が抑制されることで、大腸炎の発症が抑制される<sup>14</sup>。同様に、SCIDマウスにT細胞を移入するモデルやDSS誘導モデルにおいても、病原性T細胞の大腸への浸潤がFTY720により抑制されることが報告されている<sup>15,16</sup>。これらの結果は、上記の食物アレルギーの場合と同様、炎症性腸疾患においても病原性細胞の大腸への浸潤にSIPが関与していることを強く示唆する結果であり、これらを標的とした治療戦略の開発が期待される。

著者らは上記の知見から腸管免疫疾患におけるマスト細胞の重要性を改めて認識した。最近、マスト細胞特異的抗体ライブラリを樹立し、そのうちの一つの抗体が大腸マスト細胞で高発現しているATP受容体の一種であるP2X7を認識し、炎症性腸疾患を抑制できることを見いだした<sup>17</sup>。マスト細胞はIgEを介したアレルギーの認識だけでなく、P2X7を介して細胞外ATPを認識することで、炎症性サイトカインやケモカイン、脂質メディエーターを産生し炎症の惹起と好中球の浸潤を伴う炎症の増悪化に関わることが判明した。これは東洋医学（冬虫夏草）を起点とした研究結果を発展させた一つの研究成果と言える。

#### 漢方薬・生薬を基盤とした腸管免疫解析の今後の展開

漢方薬・生薬の中には免疫学的作用を有するものが多く存在し、学術的にもその作用メカニズムの一端が徐々に明らかになりつつある。欧米においても「補完代替医療」(Complementary and Alternative Medicine)という名称でここ最近活発に研究が進められており、東洋医学の有効性の認識とその作用メカニズムに関する研究が進められている。日本国内には臨床的知見も含めこれまでの膨大な学術的・資源的財産が蓄積されているが、今後、免疫学を始めとする各種学術領域と融合することで、さらに優れた学術情報の発信につながると期待される。FTY720の開発と作用メカニズムの解明によりSIPの免疫学的、生物学的機能の解明が飛躍的に進んだように、新規薬物の発見と作用メカニズムの解明は新たな生命現象の解明にもつながっていく。漢方薬や生薬にはそれらのシズ化合物が豊富に含まれていると予想され、今後、様々な領域との融合によりブレークスルーをもたらす大きな力を持っていると期待される。

#### 文 献

1. Cyster JG, Schwab SR: Sphingosine-1-phosphate and

lymphocyte egress from lymphoid organs. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 69-94.

2. Maceyka M, et al: Sphingosine-1-phosphate signaling and its role in disease. *Trends Cell Biol* 2012; 221: 50-60.
3. Chiba K, Adachi K: Discovery of fingolimod, the sphingosine 1-phosphate receptor modulator and its application for the therapy of multiple sclerosis. *Future Med Chem* 2012; 46: 771-781.
4. Kunisawa J, Kiyono H: Immunological function of sphingosine 1-phosphate in the intestine. *Nutrients* 2012; 43: 154-166.
5. Kunisawa J, et al: Microbe-dependent CD11b<sup>+</sup> IgA<sup>+</sup> plasma cells mediate robust early-phase intestinal IgA responses in mice. *Nat Commun* 2013; 4: 1772.
6. Kunisawa J, et al: Gut-associated lymphoid tissues for the development of oral vaccines. *Adv Drug Deliv Rev* 2012; 646: 523-530.
7. Gohda M, et al: Sphingosine 1-phosphate regulates the egress of IgA plasmablasts from Peyer's patches for intestinal IgA responses. *J Immunol* 2008; 1808: 5335-5343.
8. Kunisawa J, et al: Sphingosine 1-phosphate regulates peritoneal B-cell trafficking for subsequent intestinal IgA production. *Blood* 2007; 109: 3749-3756.
9. Kunisawa J, et al: Sphingosine 1-phosphate-dependent trafficking of peritoneal B cells requires functional NF $\kappa$ B-inducing kinase in stromal cells. *Blood* 2008; 111: 4646-4652.
10. Kunisawa J, et al: Intraepithelial lymphocytes: their shared and divergent immunological behaviors in the small and large intestine. *Immunol Rev* 2007; 215: 136-153.
11. Kunisawa J, et al: Sphingosine 1-phosphate dependence in the regulation of lymphocyte trafficking to the gut epithelium. *J Exp Med* 2007; 20410: 2335-2348.
12. Kurashima Y, et al: Sphingosine 1-phosphate-mediated trafficking of pathogenic Th2 and mast cells for the control of food allergy. *J Immunol* 2007; 1793: 1577-1585.
13. Kweon MN, et al: Systemically derived large intestinal CD4<sup>+</sup> Th2 cells play a central role in STAT6-mediated allergic diarrhea. *J Clin Invest* 2000; 1062: 199-206.
14. Mizushima T, et al: Therapeutic effects of a new lymphocyte homing reagent FTY720 in interleukin-10 gene-deficient mice with colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 103: 182-192.
15. Fujii R, et al: FTY720 suppresses CD4<sup>+</sup>CD44<sup>high</sup>CD62L<sup>-</sup> effector memory T cell-mediated colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G267-274.
16. Deguchi Y, et al: The S1P receptor modulator FTY720 prevents the development of experimental colitis in mice. *Oncol Rep* 2006; 164: 699-703.
17. Kurashima Y, et al: Extracellular ATP mediates mast cell-dependent intestinal inflammation through P2X7 purinoceptors. *Nat Commun* 2012; 3: 1034.

(受付：2013年7月11日)

(受理：2013年7月26日)