

論文の要旨

氏名 堀 采音

論文題目 **Discovery of novel immunosuppressive roles of intravenous immunoglobulin (IVIg)**
(免疫グロブリン製剤 (IVIg) が有する新たな免疫抑制作用の発見)

緒言

難治性炎症疾患の治療法として、献血健常者由来のIgG画分を主成分とする免疫グロブリン製剤を大量投与する免疫グロブリン (IVIg) 療法が行われている。本治療法は重症感染症や自己免疫疾患などに著明な治療効果を示す一方、その多彩な免疫抑制作用をもたらす奏効機序の全容は未だ謎に包まれている。そのため、IVIg療法の適用は急性期の重篤患者や小児患者に限定的であり、IVIgの治療標的を狙い撃つより効果的な分子標的薬の開発も困難であるのが現状である。そこで本研究では、「IVIgの多彩な免疫抑制能は、単一の標的細胞・分子標的のみを起点として発揮されるのではなく、複数の免疫制御機序が複合的に作用することで発揮される」との仮説に基づき、IVIgの標的細胞サブセットを再定義すると共に、その免疫抑制機構を解明することを目的とした。

第一章 IVIgは定常状態B細胞に作用し、その恒常性増殖を抑制する

B細胞は、自己免疫疾患において自己抗体の産生により多様な炎症病態を媒介することが知られている。先行知見では、抑制性受容体に対するIVIgのアゴニスト結合を介したB細胞の異常活性化抑制などが報告されているが、定常状態B細胞に対するIVIgの作用を解析した例はない。本章では、定常状態B細胞に対するIVIgの免疫抑制能を評価することを目的とした。まず、定常状態免疫細胞に対するIVIgの免疫抑制作用を評価したところ、IVIgが未刺激の定常状態脾細胞の恒常性増殖を顕著に抑制するとともに細胞凝集塊の形成を誘導することを見出した。そこで、IVIgによる恒常性増殖抑制の標的細胞の特定を試みたところ、脾細胞で見られていた恒常性増殖活性がB細胞の除去により完全に消失した一方で、精製B細胞の恒常性増殖活性をIVIgが顕著に抑制したことから、IVIgは定常状態B細胞を標的とし、その恒常性増殖を抑制することが示唆された。また、IVIgによる細胞凝集塊形成についても同様に標的細胞の特定を試みたところ、IVIgが細胞凝集塊の形成においてもB細胞を標的としていることが明らかとなった。そこで、これらのB細胞に対する作用が、既知の凝集塊規定分子であるCD18 (integrin $\beta 2$) およびCD16/CD32 (Fc γ receptors) を介するかを検討したところ、いずれの分子に対する中和抗体との共培養でもIVIgによる凝集塊形成ならびに増殖抑制作用は消失しなかった。よって、IVIgによるB細胞の恒常性増殖抑制ならびに凝集塊形成は、既知の凝集塊規定分子を介することなく発揮されることが示唆された。

第二章 IVIg は conventional T 細胞に直接作用し、その活性化を抑制する

T 細胞の過剰活性化は多くの自己免疫疾患で観察される炎症病態であり、IVIg がこれらの T 細胞異常応答を抑制しうることが知られている。これらの作用は抗原提示細胞や制御性 T 細胞 (Treg) を介した間接的な抑制作用として理解されており、Non-Treg である conventional T 細胞に対する直接的な作用については明らかになっていない。本章では、IVIg による T 細胞の直接的な免疫抑制作用の有無を検討し、その作用機構を解明することを目的とした。はじめに、IVIg の T 細胞抑制能を確認したところ、IVIg が T 細胞賦活剤の刺激下で脾細胞の増殖を顕著に抑制することを見出した。そこで、これらの抑制効果が T 細胞に対する直接的な作用であるかを検討したところ、IVIg が精製 T 細胞の増殖を顕著に抑制することが明らかとなった。次に、IVIg の T 細胞抑制効果における Treg の関与を調査したところ、精製 T 細胞から内在性 Treg を除去しても IVIg の増殖抑制能は残存しており、IVIg による誘導性 Treg の有意な増加も認められなかった。よって、IVIg は Non-Treg である conventional T 細胞に作用し、その活性化を抑制しうることが示唆された。これまでの結果は、IVIg が T 細胞抗原受容体 (TCR) シグナリングを直接抑制しうることを示唆している。そこで、同シグナル伝達経路を構成する CN/NFAT、MAPK/AP-1、および IKK/NF- κ B の 3 つの経路の活性化を確認したところ、IVIg により 3 つ全ての経路が抑制されること、また、より膜近傍のキナーゼである ZAP-70 のリン酸化も IVIg により抑制されていることが明らかとなった。以上により、IVIg は TCR シグナリングの膜近傍シグナリングイベントを抑制標的としていることが示唆された。最後に、IVIg により特異的に駆動するシグナル分子の探索を行ったところ、ZAP-70 モジュレーターである Lck と CD45 ホスファターゼが検出された。これらの分子は TCR シグナリングの活性化を膜近傍で制御する分子であることから、IVIg による T 細胞抑制効果の標的分子として有力な候補となりうる。

総括

本研究では、B 細胞ならびに T 細胞に対する IVIg の新たな免疫抑制作用を発見した。第一章では IVIg が定常状態 B 細胞に対して作用し、その恒常性増殖を抑制することを、第二章では IVIg が conventional T 細胞に作用し、その活性化を抑制することを明らかとした。本研究において得られた一連の知見は、IVIg が免疫活性化状態に応じて異なる免疫細胞を標的とすることで多様な免疫抑制効果を発揮しうることを示唆しており、本研究で新たに発見した免疫抑制作用は B 細胞や T 細胞の異常を基調とした炎症病態治療を開発する上で、新たな薬剤標的を提案する知見となりうる。