

免疫系における恒常性の維持と制御性 T 細胞

Mechanisms of regulatory T cell mediated immune suppression

濱口真英・坂口志文

Masahide Hamaguchi & Shimon Sakaguchi

大阪大学免疫学フロンティア研究センター 実験免疫学

要約

免疫系における恒常性の維持においては、免疫抑制機能に特化した細胞系譜である制御性 T 細胞が重要である。制御性 T 細胞による免疫抑制の中心的な機序として、インターロイキン 2 の産生抑制、CD25 の発現によるインターロイキン 2 の枯渇、CTLA-4 の発現による抗原提示細胞の機能抑制がある。これらにくわえ、インターロイキン 10 の産生など副次的な抑制機能がはたらくと考えられている。最近の研究から、制御性 T 細胞は腫瘍免疫や移植免疫などにおけるさまざまな生理的あるいは病的な免疫応答の制御、また、免疫恒常性の維持に必須であることが明らかになってきた。今後、制御性 T 細胞を標的とした免疫疾患の治療法および予防法、また、免疫応答を亢進あるいは減弱させる手法の開発について迅速な進展が期待される。

はじめに

正常な免疫系は病原微生物などの病原体に反応しこれを効果的に排除するが、個体を構成する生体分子、腸内細菌などの共生微生物、あるいは、環境物質に対しては反応しない。一方、自己を構成する分子に対する免疫不応答が破れ自己免疫応答が惹起されると、自己免疫疾患の発症にいたる。また、病原体に対する免疫応答であっても、それが過剰であれば組織の傷害をとめない免疫病理学的な疾患の原因となる。たとえば、腸内細菌などの共生微生物や食餌抗原に対する過剰な免疫応答は炎症性腸疾患の原因のひとつである。また、花粉など免疫学的に無害な環境物質に対する過剰な免疫応答はアレルギー性疾患を惹起する。ここでは、このような免疫自己寛容あるいは免疫恒常性を維持する制御機構について、制御性 T 細胞の役割を中心に最近の考え方を解説する。

1. 免疫自己寛容および免疫恒常性の維持と制御性 T 細胞

免疫系は“自己”と“非自己”の免疫学的な識別の機構と、それにもとづく免疫自己寛容の導入および免疫恒常性の維持の機構をもつ。免疫自己寛容とは自己抗原に対する免疫不応答をいう。このような免疫応答の代表的な機構として、自己反応性リンパ球の負の選択がある。胸腺においては、胸腺ストローマ細胞により提示される自己抗原ペプチドと NHC 分子との複合体を未熟な自己反応性の T 細胞が強く認識すると、この T 細胞はアポトーシスにおちいる。すなわち、胸腺や骨髄といった中心性リンパ球産生器官では自己反応性リンパ球が負の選択により排除されている。しかしながら、すべての自己反応性リンパ球が排除されるわけではない。実際、自己抗原を強力なアジュバントとともに免疫すれば自己抗体あるいは自己反応性 T 細胞を容易に誘導できる。すなわち、潜在的に自己免疫疾患を起こしうる自己反応性リンパ球は、正常な個体の末梢免疫系に生理的な状態で存在する。このような自己反応性リンパ球の活性化および増殖を抑制する生理的な制御機構のひとつは、特定の T 細胞による抑制的な制御である。

免疫応答の抑制的な制御機能に特化した T 細胞が存在するか否か、存在するとしてもその異常がなんらかの免疫疾患の原因であるか否かに関しては、長く議論があった。この仮説を直接的に証明する実験のひとつは、正常な動物から特定の T 細胞の亜群を除去することにより自己免疫疾患などの免疫疾患を誘導できるか、除去した T 細胞の亜群をおぎなうことでその免疫疾患の発症を抑制できるか、を検討することである。そのような試みとして、正常なマウスの脾臓から調製した T 細胞から CD25 (インターロイキン 2 受容体 α 鎖) を発現する CD4 陽性 T 細胞を除去し、T 細胞の欠損する同系のマウス (たとえば、先天的に胸腺を欠損するヌードマウス) に残りの T 細胞を移入すると、

移入から 2~3 カ月で自己免疫性甲状腺炎, 自己免疫性胃炎, I 型糖尿病などさまざまな自己免疫疾患が高率に自然発症することが示された (図 1a). この自己免疫疾患の発症は, 少数の CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞の同時移入により完全に阻止された. このような自己免疫疾患の発症阻止能をもつ CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞は, 正常な個体において末梢の CD4 陽性 T 細胞の約 10%をしめており, 制御性 T 細胞と名づけられた²⁾. また, CD25 陽性 CD4 陽性制御性 T 細胞は正常な胸腺において機能的に成熟した状態で産生される. すなわち, 正常な胸腺は, 自己免疫疾患を惹起しうる自己反応性 T 細胞のみならず, その活性化および増殖を抑制する制御性 T 細胞をも産生する. 免疫自己寛容は, 自己反応性 T 細胞に対する負の選択にくわえ, 制御性 T 細胞による能動的な抑制により維持されている³⁾.

2. CD25 陽性 CD4 陽性制御性 T 細胞と転写因子 Foxp3

免疫系に内在する CD25 陽性 CD4 陽性制御性 T 細胞の重要な特徴として, 転写因子 Foxp3 を特異的に発現しており, Foxp3 の欠損あるいは突然変異により制御性 T 細胞の発生および分化, また, 抑制機能が障害されることがある. Foxp3 遺伝子は致死性の自己免疫および炎症性疾患を自然発症する Scurfy マウスの原因遺伝子としてポジショナルクローニング法により X 染色体において同定され, つづいて, あとでのべるヒト IPEX 症候群の原因遺伝子であることが示されたものである⁴⁾. また, 正常な T 細胞でも Foxp3 を異所性に発現させることにより免疫抑制機能が発揮されるという実験結果から, Foxp3 遺伝子は制御性 T 細胞の発生および機能におけるマスター遺伝子であると考えられている⁵⁻⁷⁾.

制御性 T 細胞の存在は動物実験により証明されたが, 制

御性 T 細胞が免疫自己寛容あるいは免疫恒常性の維持に不可欠な役割をはたしていることの直接的な証拠は, X 染色体伴性劣性の遺伝疾患である IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked, X 染色体連鎖免疫制御異常多発性内分泌障害消化器病) 症候群の存在である. この単一の遺伝子変異による稀少性の遺伝疾患では, I 型糖尿病が 80%, 自己免疫性甲状腺炎が 70%, そのほか, 溶血性貧血, 血小板減少性紫斑病などさまざまな自己免疫疾患が生後 3 年以内に発症する. ほとんど全例において炎症性腸炎が発症し, また, 高免疫グロブリン E 血症, アレルギー性皮膚炎, 食物アレルギーがみられる. IPEX 症候群の原因遺伝子はさきに述べた FOXP3 遺伝子である. FOXP3 遺伝子に突然変異が生じるとその大半において制御性 T 細胞の発生が阻害され, その結果, 自己抗原および非自己抗原に対する免疫応答の制御が異常をきたす⁸⁾ (図 1b).

転写因子 Foxp3 による遺伝子発現の制御機構の解明は, 胸腺で産生される制御性 T 細胞の発生および機能の理解のみならず, 人工的に Foxp3 陽性制御性 T 細胞を作製するうえでも重要である. 実際, マウスのナイーブ CD4 陽性 T 細胞を TGFβ の存在下において抗原により刺激すると Foxp3 を発現し, 機能および表現型において内在性の制御性 T 細胞に類似した誘導性制御性 T 細胞を実験的に作製できる. しかし, 内在性の制御性 T 細胞と誘導性制御性 T 細胞とは機能的に完全には同一ではないことも示されている^{8,9)}. 内在性の制御性 T 細胞と誘導性制御性 T 細胞との最大の差異は, T 細胞受容体の抗原特異性と Foxp3 発現の安定性である. すなわち, 誘導性制御性 T 細胞は自己抗原に対する親和性の低いナイーブ CD4 陽性 T 細胞から分化させるため, おのずと自己認識能も低くなる. このことは, 自己免疫疾患の細胞療法として誘導性制御性 T

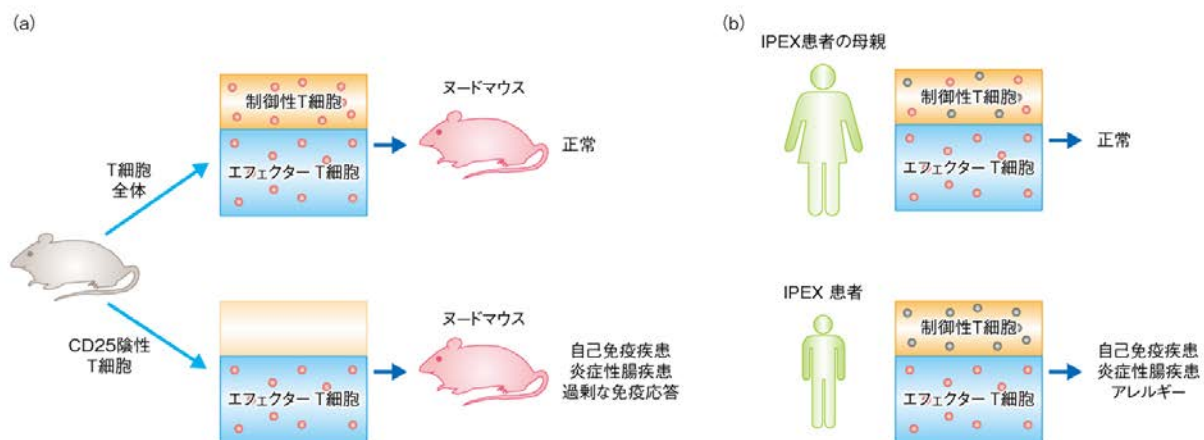


図 1 Foxp3 陽性制御性 T 細胞による免疫自己寛容の維持とその異常

(a) 正常なマウスに由来するリンパ球から制御性 T 細胞 (CD25 陽性 T 細胞) を除去したのちヌードマウスに移入すると, 自己免疫疾患や炎症性腸疾患などの免疫疾患を自然発症する.

(b) ヒトの IPEX 症候群では FOXP3 遺伝子の突然変異の結果, 機能性の制御性 T 細胞が欠損している. その結果, 自己免疫疾患や炎症性腸疾患, アレルギーが発症する.

細胞を用いることにおいては不利にはたらくが、一方、移植片に対する免疫寛容を目標とした細胞療法では有利にはたらくかもしれない。しかし、誘導性制御性 T 細胞における *Foxp3* の発現は不安定であり、このことが臨床への応用をはばんでいる⁹⁾。

近年の研究により、誘導性制御性 T 細胞における *Foxp3* 発現の不安定性は、おもに *Foxp3* 遺伝子のエピジェネティックな制御の違いに由来すると理解されている⁹⁻¹²⁾。エピジェネティクスとは、DNA 塩基配列の変化をとまわず細胞分裂ののちも継承される遺伝子発現あるいは表現型の変化と定義され、遺伝子発現のエピジェネティックな制御とは、DNA の配列は変化することなく DNA やクロマチンの修飾により遺伝子発現が制御されることである。近年、細胞系譜に特異的な遺伝子発現制御は、転写因子による制御とエピジェネティックな制御に依存することが明らかになってきている。制御性 T 細胞におけるエピジェネティックな制御として、*Foxp3* をはじめとする制御性 T 細胞に特異的なさまざまな機能タンパク質をコードする遺伝子の発現制御領域において、制御性 T 細胞に特異的な脱メチル化領域の存在することがある。誘導性制御性 T 細胞では *Foxp3* 遺伝子をはじめとする制御性 T 細胞に特異的な遺伝子において、制御性 T 細胞に特異的な脱メチル化領域がメチル化されたままであり、このため、*Foxp3* 遺伝子を含む制御性 T 細胞に特異的な遺伝子の発現は不安定である。現在では、制御性 T 細胞を人工的に誘導するには単に *Foxp3* を発現させればよいという段階は終了し、いかに *Foxp3* を安定的に発現させるかという段階に入っている。

また、ヒトの CD4 陽性 T 細胞は T 細胞受容体に強い刺激を受けると比較的容易に FOXP3 を発現することが知られているが、このような FOXP3 陽性 CD4 陽性 T 細胞は制御性 T 細胞に特異的な脱メチル化領域が脱メチル化されておらず、FOXP3 の発現は不安定であり、さらに、免疫抑制機能をもたない¹³⁾。制御性 T 細胞に特異的なエピジェネティックな修飾を導入することにより、FOXP3 の発現のみならず、機能的に安定な制御性 T 細胞を作製する手法の開発が望まれる。

3. 制御性 T 細胞による免疫恒常性の維持の分子機構とその異常

さきに述べたように、制御性 T 細胞は CD25 (インターロイキン 2 受容体 α 鎖) を高発現している²⁾。CD25 は、インターロイキン 2 受容体 β 鎖である CD122 およびインターロイキン 2 受容体 γ 鎖である CD132 とともに、インターロイキン 2 受容体を構成する。制御性 T 細胞は、胸腺における産生のときからすでに高親和性のインターロイキン 2 受容体を発現する特異な T 細胞である。一方、制御性 T 細胞では転写因子 *Foxp3* がインターロイキン 2 遺伝子の発現を抑制している。その結果、制御性 T 細胞の生存の維持には、ほかの細胞により産生されるインターロイキン 2 が不可欠である。実際に、インターロイキン 2 ノックアウトマウスは制御性 T 細胞の異常により致死性の自己免疫性炎症を発症する¹⁴⁾。また、正常な個体にインターロイキン 2 の中和抗体を投与すると、制御性 T 細胞が減少し自己免疫疾患が自然発症する¹⁵⁾。したがって、CD25 は制御性 T 細胞のよいマーカーであると同時に、制

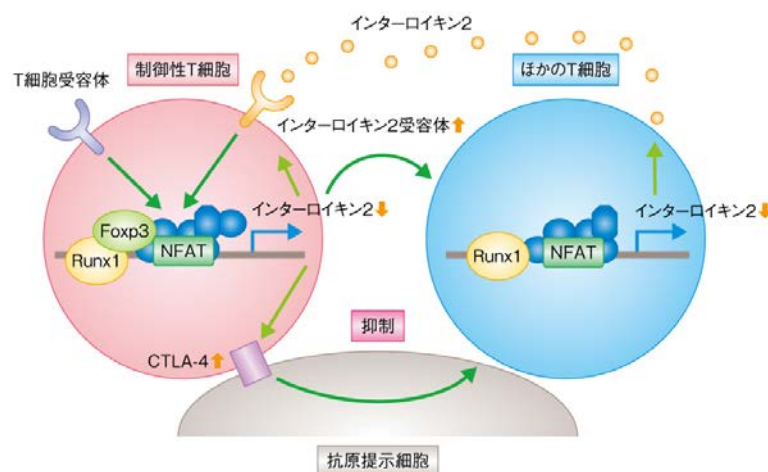


図2 Foxp3 陽性制御性 T 細胞による免疫抑制の分子機構

転写因子 *Foxp3* は、*Runx1* や *NFAT* などほかの転写因子、共役活性化タンパク質、共役抑制タンパク質とともに転写因子複合体を形成し、さまざまな遺伝子の活性化を制御している。なかでも、*Ctla4* 遺伝子の活性化やインターロイキン 2 遺伝子の抑制が重要である。制御性 T 細胞の発現する CTLA-4 は、抗原提示細胞において CD80/CD86 の発現を低く抑えることにより、ほかの T 細胞の活性化に必要な副刺激を提供できないようにしている。また、制御性 T 細胞は高親和性のインターロイキン 2 受容体を高発現し、周囲からインターロイキン 2 を受け取ることにより、ほかの T 細胞からインターロイキン 2 を奪いその活性化をさまたげる。制御性 T 細胞は複数の免疫抑制機構をもつが、もっとも重要な機構は抗原提示細胞、とくに樹状細胞による T 細胞活性化の抑制である。

御性 T 細胞の機能に必須のタンパク質でもある。さらに、ほかの T 細胞によりインターロイキン 2 が大量に産生されると、制御性 T 細胞が増殖し免疫抑制が亢進することにより、さらなる免疫反応が抑制される。すなわち、インターロイキン 2 は負のフィードバックによる免疫制御を媒介している (図 2)。

制御性 T 細胞は複数の機序により免疫抑制能を発揮するが、制御性 T 細胞の免疫抑制機能の根幹は抗原提示細胞による T 細胞活性化の抑制である。ナイーブ T 細胞は抗原提示細胞、とくに樹状細胞の提示する抗原による T 細胞受容体への刺激 (シグナル 1) と、抗原提示細胞に発現する CD80/CD86 による CD28 への副刺激 (シグナル 2) により活性化され、インターロイキン 2 を産生し増殖する。制御性 T 細胞の重要な特徴として、CD28 の分子ホモログである CTLA-4 をつねに高発現していることがある¹⁶⁾。CTLA-4 は CD28 と同じく CD80/CD86 と結合する。結合の親和性は CTLA-4 のほうが CD28 より 20 倍も高い。制御性 T 細胞に発現する CTLA-4 は抗原提示細胞において CD80/CD86 の発現を抑制する。その結果、抗原提示細胞は抗原を提示しても副刺激を提供できないため、ほかの T 細胞を活性化できない¹⁷⁾ (図 2)。さらに、さきに述べたように、制御性 T 細胞は高親和性のインターロイキン 2 受容体を高発現し、周囲からインターロイキン 2 を受け取ることでほかの T 細胞の活性化および増殖に必要なインターロイキン 2 を奪い、抗原反応性の T 細胞にアポトーシスを誘導する。さらに、制御性 T 細胞は特定の条件 (たとえば、腸管粘膜) において免疫抑制性のサイトカインであるインターロイキン 10 を産生する。インターロイキン 10 はおもに抗原提示細胞の成熟を抑えることにより免疫抑制に関与する¹⁸⁾。また、制御性 T 細胞は炎症のタイプに応じて免疫応答を制御することができる。たとえば、基本的な抑制活性を維持しつつ、Th1 型の炎症 (たとえば、インターフェロン γ の産生) に応じて特定のケモカイン受容体 (たとえば、CXCR3) を発現し、Th1 反応の場に動員されてそこで免疫抑制能を発揮する。

4. さまざまな生理的および病的な状態と制御性 T 細胞

制御性 T 細胞は免疫自己寛容の維持に必要な T 細胞として発見された。のちの研究により、制御性 T 細胞がさまざまな生理的あるいは病的な免疫応答の制御、また、免疫恒常性の維持において必須であることが明らかになってきた^{4,19)}。たとえば、腫瘍免疫において腫瘍細胞に特異的なリンパ球の認識する腫瘍抗原の多くは正常な自己抗原である。したがって、制御性 T 細胞は免疫自己寛容を維持すると同時に、腫瘍に対する免疫監視機構を減弱あるいは阻害する。また、腫瘍組織では制御性 T 細胞が増加し、ときに腫瘍に浸潤した T 細胞の大部分が制御性 T 細胞で認められることもある。実際に、実験的に制御性 T 細胞を除

去あるいは減少させることにより腫瘍に対する免疫応答を亢進させることができる。現在、制御性 T 細胞を標的とするがん免疫療法が開発されつつある。一方で、臓器移植の理想は、移植臓器に対し自己の臓器に対するのと同じく安定な免疫寛容を誘導することである。実際に、実験的に制御性 T 細胞を移植アロ抗原に特異的に増殖させることにより移植免疫寛容を誘導できる。さらに、ウイルス、細菌、寄生虫などによるさまざまな感染症において、制御性 T 細胞を除去あるいは減少させることにより免疫応答を実験的に亢進させることが可能である。また、さきの IPEX 症候群にみられるように、制御性 T 細胞の機能異常により腸内常在細菌に対する過剰な免疫応答が惹起されることから、常在微生物との生理的な共生においても制御性 T 細胞は必須のはたらしをしているものと考えられる。一方、妊娠した母体がどのようにして胎仔に対する免疫寛容を維持しているのかの理解はいまだに免疫学の重要な課題であるが、妊娠した動物では胎盤に多くの制御性 T 細胞の集積がみられる。また、妊娠した動物から制御性 T 細胞を除去するととんに流産が惹起される。したがって、胎児と母胎における免疫寛容において制御性 T 細胞が重要な役割をはたしているものと考えられる²⁰⁾。

おわりに

ここでは、制御性 T 細胞の発見の歴史的な意義からはじめ、制御性 T 細胞を特徴づける転写因子 Foxp3 とエピジェネティックな制御、ならびに、免疫抑制の分子機構について、主要な項目にしばり解説した。このような知見をもとに、今後、制御性 T 細胞を標的とした免疫疾患の治療法や予防法、また、免疫応答を亢進あるいは減弱する手法の開発について迅速な進展が期待される。

文献

- 1) Sakaguchi, S.: Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell*, 101, 455-458 (2000)
- 2) Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M. et al.: Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.*, 155, 1151-1164 (1995)
- 3) Itoh, M., Takahashi, T., Sakaguchi, N. et al.: Thymus and autoimmunity: production of CD25⁺CD4⁺ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J. Immunol.*, 162, 5317-5326 (1999)
- 4) Bennett, C. L., Christie, J., Ramsdell, F. et al.: The immune dysregulation, polyendocrinopathy,

enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat. Genet.*, 27, 20-21 (2001)

5) Hori, S., Nomura, T. & Sakaguchi, S.: Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 299, 1057-1061 (2003)

6) Fontenot, J. D., Gavin, M. A. & Rudensky, A. Y.: Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Nat. Immunol.*, 4, 330-336 (2003)

7) Khattri, R., Cox, T., Yasayko, S. A. et al.: An essential role for Scurfin in CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells. *Nat. Immunol.*, 4, 337-342 (2003)

8) Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T. et al.: Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*, 133, 775-787 (2008)

9) Floess, S., Freyer, J., Siewert, C. et al.: Epigenetic control of the *foxp3* locus in regulatory T cells. *PLoS Biol.*, 5, e38 (2007)

10) Polansky, J. K., Kretschmer, K., Freyer, J. et al.: DNA methylation controls Foxp3 gene expression. *Eur. J. Immunol.*, 38, 1654-1663 (2008)

11) Huehn, J., Polansky, J. K. & Hamann, A.: Epigenetic control of FOXP3 expression: the key to a stable regulatory T-cell lineage? *Nat. Rev. Immunol.*, 9, 83-89 (2009)

12) Ohkura, N., Hamaguchi, M., Morikawa, H. et al.: T cell receptor stimulation-induced epigenetic changes and Foxp3 expression are independent and complementary events required for Treg cell development. *Immunity*, 37, 785-799 (2012)

13) Miyara, M., Yoshioka, Y., Kitoh, A. et al.: Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity*, 30, 899-911 (2009)

14) Schorle, H., Holschke, T., Hunig, T. et al.: Development and function of T cells in mice rendered

interleukin-2 deficient by gene targeting. *Nature*, 352, 621-624 (1991)

15) Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T. et al.: Homeostatic maintenance of natural Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J. Exp. Med.*, 201, 723-735 (2005)

16) Takahashi, T., Tagami, T., Yamazaki, S. et al.: Immunologic self-tolerance maintained by CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J. Exp. Med.*, 192, 303-309 (2000)

17) Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P. et al.: CTLA-4 control over Foxp3⁺ regulatory T cell function. *Science*, 322, 271-275 (2008)

18) Izcue, A., Coombes, J. L. & Powrie, F.: Regulatory lymphocytes and intestinal inflammation. *Annu. Rev. Immunol.*, 27, 313-338 (2009)

19) Sakaguchi, S. & Powrie, F.: Emerging challenges in regulatory T cell function and biology. *Science*, 317, 627-629 (2007)

20) Rowe, J. H., Ertelt, J. M., Xin, L. et al.: Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature*, 490, 102-106 (2012)

著者プロフィール

濱口 真英 (Masahide Hamaguchi)

略歴: 2009年 京都府立医科大学大学院医学研究科 修了, 2013年より大阪大学免疫学フロンティア研究センター 助教.

研究テーマ: 制御性 T 細胞の発生と機能発現の分子機構.

坂口 志文 (Shimon Sakaguchi)

大阪大学免疫学フロンティア研究センター 教授.