

テュートリアル

事例 1 (11月 7日・水曜日に提示)

22歳の女性がK大学医学部附属病院の内分泌・代謝・糖尿病内科に紹介されて来ました。身長168 cm、体重 52kgとやせ形で、重い全身倦怠感を訴えています。研修医のAさんが、指導医の先生とともに担当することになりました。

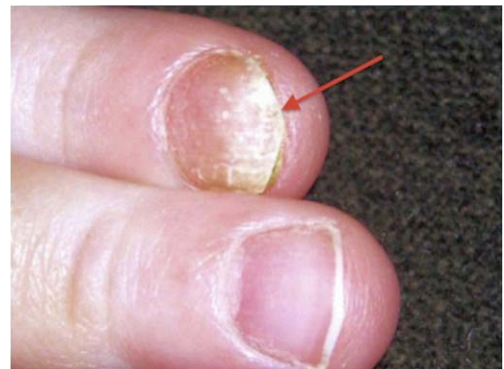
家族歴に特別なことはなく、祖父母は健在、父親は肝癌で死亡していましたが、母親と弟も健在で、何れも特別の病歴は無いとのことでした。

患者には長い病歴があり、3歳の頃から手指の爪が白く濁って爪カンジダ症と診断され、同時にカンジダによる口角炎・舌炎を繰り返して、本学部附属病院に紹介されています。抗真菌薬の処方により軽快したようですが、その後も手指の爪の白濁や指の付け根のびらん・発赤、および下痢を繰り返しています。11歳の時には四肢のしびれ感と筋肉の拘縮を生じ、17歳までに繰り返して全身痙攣発作を起こしています。血液検査で血清のカルシウム濃度が著しく低く、PTHが検出限界以下であったことが検査記録に残されています。治療のためジヒドロタキステロールの投与を受けていました。

診察の結果、血圧は85/58mmHgと低値、二次性徴の発現が乏しく、歯牙にエナメル質の形成不全があり、皮膚は色素沈着が増加して、爪が褐色調を帯びる一方、結膜は貧血色を示していました。血液検査を行ったところ、PTHが検出限界以下であることに加え、早朝血中コルチゾール値が4.2 μ g/dlと低下、早朝ACTHは984 pg/mlと増加していました。

キーワード

- ☐ 22歳の女性
- ☐ 内分泌・代謝・糖尿病内科
- ☐ 全身倦怠感
- ☐ 家族歴無し
- ☐ 爪カンジダ症
- ☐ 口腔カンジダ症
- ☐ 下痢
- ☐ 四肢の痺れ
- ☐ 筋肉拘縮
- ☐ 全身痙攣
- ☐ 低カルシウム血症
- ☐ PTH
- ☐ ジヒドロタキステロール
- ☐ 二次性徴
- ☐ エナメル質形成不全
- ☐ 皮膚色素沈着
- ☐ 貧血
- ☐ コルチゾール低値
- ☐ ACTH高値



Clodagh S O'Gorman, Rayzel Shulman, Irene Lara-Corrales, Elena Pope, Margaret Marcon, Hartmut Grasemann, Rayfel Schneider, Julia Upton, Etienne B Sochett, Dror Koltin, and Eyal Cohen. J. Med. Case Rep. (2013) 7:44.

こんなことを考えてみよう

- ☐ カンジダとはどのような病原体か？
- ☐ カンジダによる感染症はどのような時に起こるか？
- ☐ カンジダに有効な抗菌薬にはどのようなものがあるか？
- ☐ 四肢の痺れや筋肉の拘縮は、どのような場合に起こるか？
- ☐ 血清のカルシウム濃度はどのように調節されているか？
- ☐ PTHはどのようなホルモンか？PTHはどこで作られるのか？
- ☐ コルチゾールが低値でACTHが高値の時は、どのような原因を考えるか？
- ☐ 皮膚の色素沈着とACTHにはどのような関係があるか？
- ☐ 貧血の原因にはどのようなものがあるか？

解説

今年の事例は多腺性自己免疫症候群 (Autoimmune polyglandular syndrome: APS) 1型、またはカンジダ感染と外胚葉形成異常を伴う自己免疫性多腺性内分泌不全症 (Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal syndrome: APECED) と呼ばれる遺伝性疾患を採り上げます。この疾患は、胸腺髄質における組織特異的自己抗原の発現を制御する転写制御因子AIRE (autoimmune regulator) の遺伝子変異により、Tリンパ球抗原受容体の負の選択が正常に行われなくなり、自己反応性Tリンパ球が末梢リンパ組織に出現する結果、複数の内分泌系組織の免疫学的傷害と多彩な自己抗体の出現を見る、稀な遺伝性疾患です。事例1は、我が国のものを含む実在の複数の症例¹⁻³⁾を下敷きにしたものです。

本疾患の日本での報告例は数例²⁾で、世界的にも稀な疾患であり、年間発生頻度は<1/100,000出生ですが、イラン系ユダヤ人 (1/9,000)、フィンランド人(1/25,000)、サルディニア島イタリア人(1/14,400)などの民族集団では比較的高頻度に認められます³⁻⁵⁾。

APS-1型の「3主徴」は、皮膚粘膜カンジダ症、副甲状腺機能低下症と副腎皮質機能低下症とされますが、このうち皮膚粘膜カンジダ症は最も早期(5歳未満)から認められる臨床症状で、ほぼ100%の症例で確認されます³⁻⁵⁾。APS-1型における口腔カンジダ症は通常の鰐口瘡より重症となります。消化管にもカンジダ症を生じることがあり、下痢を反復し、あるいは食道カンジダ症が重症化した場合には、摂食障害や続発性の食道癌を起こすこともあります⁶⁾。肛門周囲や、女性の場合外性器にも慢性のカンジダ症を伴うことがあります。

APS-1型に見られる多彩な内分泌腺疾患のうち、副甲状腺機能低下症および副腎皮質機能低下症 (Addison病) は70%以上の頻度で認められ、前者は10歳までに、後者は15歳までに発症する場合が多いとされます^{3, 5)} (次頁の表は、文献8より引用)。副甲状腺はカルシウム代謝に重要な副甲状腺ホルモン (PTH) を産生する臓器であり、副甲状腺機能低下症では低カルシウム血症により、四肢のしびれ感、筋拘縮、けいれんなどを生じます。事例で治療に用いられているジヒドロタキステロールは、ビタミンDの誘導体です。

一方、副腎皮質機能低下は副甲状腺機能低下症に比べ発症が遅い傾向があります³⁻⁵⁾。副腎皮質で産生される糖質コルチコイドは、糖代謝やストレスに対する反応に重要な役割を持ち、その欠乏は体重減少・食欲低下・倦怠感・脱力・頭痛・低血糖・悪心・嘔吐など、多彩な症状を呈し得ます。また、鉱質コルチコイドは水・電解質バランスのコントロールに重要で、その欠乏は低ナトリウム血症、高カリウム血症、代謝性アシドーシス、低血圧・頻脈などの症状を呈します。更に、副腎性アンドロゲンの欠乏は女性において皮膚萎縮・腋毛恥毛減少・筋力低下・貧血などにつながります。なお、APS-1型における貧血は、抗内因子抗体や抗壁

細胞抗体によって生じる胃炎の結果、ビタミンB12の吸収が低下し、巨赤芽球性貧血（悪性貧血）の形で生じる場合もあります^{3,4)}。

副腎皮質の免疫学的傷害による糖質コルチコイド欠乏は、下垂体からの慢性的なACTH分泌促進を引き起こします。ACTHの1-13番アミノ酸残基から成るペプチドは切断されて α -メラニン細胞刺激ホルモン(MSH)となりますから、メラノサイトが活性化され、皮膚の色素沈着が目立つようになります。

その他、膵ランゲルハンス島の免疫学的傷害によってインスリン産生低下(1型糖尿病)を起こしたり、まれに自己免疫性の甲状腺機能低下症を伴ったりすることもあります³⁾。

学生の皆さんは既に梶教授の内分泌学の講義を受けていますから、PTHの機能や副甲状腺機能低下症の病態、副腎皮質機能低下症の原因と病態、及びACTHとMSHの関係を知っている筈です。事例1の臨床所見から、これら内分泌学に関する既存の知識を論理的に整理して下さい。また、既に微生物学を学んでいますから、カンジダがヒトの皮膚や粘膜における常在微生物であること、その感染症は「日和見感染症」として生じること、抗真菌薬にはどのようなものがあるかなどを知っている筈です。これら、真菌学に関する自らの知識を引き出し、復習の意欲を高めて下さい。

事例 2 (11月 9日・金曜日に提示)

迅速ACTH負荷試験では、血中コルチゾールが投与30分後でも60分後でも投与前の1.2倍程度にしか上昇しませんでした。

指導医の先生は、診断の有力な根拠となるから、患者さんの血清中の I 型インターフェロンやIL-17、及びIL-22に対する中和抗体を調べてみようと言いました。また、遺伝子検査も行うことになりました。Aさんは学生時代に免疫学の講義でIL-17について教わったことを思い出しましたが、IL-22って何だったかなと思いました。

キーワード

- ☐ 迅速ACTH負荷試験
- ☐ 血中コルチゾール
- ☐ I 型インターフェロン
- ☐ IL-17
- ☐ IL-22
- ☐ 遺伝子検査

こんなことを考えてみよう

- ☐ 迅速ACTH負荷試験は、何を調べるために行うのだろうか？
- ☐ ACTHの付加を行うと、通常は血中コルチゾールがどのように変化するのか？
- ☐ 迅速ACTH負荷試験の結果は、患者の副腎皮質について何を示しているだろうか？
- ☐ インターフェロンって何？
- ☐ I 型インターフェロンがあるなら、II 型もあるの？
- ☐ IL-17って何？
- ☐ IL-22って何？
- ☐ 中和抗体とはどのような抗体？
- ☐ 自分自身のサイトカインに対する抗体が出来るの？
- ☐ 遺伝子検査で何を調べるのだろうか？

解説

事例2を提示する前に、まず事例1について自己学習の成果を発表し、十分な討論を行って下さい。

学生さんたちは、APS-1型の3主徴の存在に気付いたでしょうか？記載されている症状や所見、またそれらの発現の順序が、APS-1型の特徴と良く一致していることを理解しましたか？

手指の爪の白濁は、爪白癬が一般的ですが、爪カンジダ症でも生じます。また、指の付け根の発赤やびらんも、皮膚カンジダ症の一環と理解されます。四肢の痺れやけいれんは副甲状腺機能低下症に伴う低カルシウム血症で説明され、全身倦怠、低血圧、二次性徴の発現低下、皮膚の色素沈着、爪の褐色調(カンジダ症に伴う慢性炎症も関連していると考えられます)、貧血などは副腎皮質機能低下症で説明出来ます。貧血については、ビタミンB12欠乏による巨赤芽球性貧血の可能性もありますが、これは骨髄の検査や血清鉄の検査を試みないとわかりません。

迅速ACTH負荷試験は、副腎皮質機能低下症の原因を鑑別するために実施されます。健常者では、ACTH負荷後30分または60分の血中コルチゾール値が、負荷前の2～4倍に増

量します。クッシング症候群のうち腺腫では無反応または増加のいずれかが認められ、過形成では反応陽性であり、Addison病では副腎皮質そのものが障害されていますから、増加反応を示しません。

さて、APS-1型では、胸腺における自己反応性T細胞の負の選択に異常を生じる結果、末梢リンパ組織に自己抗原由来ペプチドを強く認識出来るCD4陽性Tリンパ球が出現し、これが自己反応性Bリンパ球とT-B細胞間相互作用を行う結果、多彩な自己抗体が出現します。

APS-1に見られる自己抗体は、副腎皮質のステロイド合成酵素 (P450c21: 21-OH、P450c17: 17 α -OHなど)、副甲状腺上皮細胞のカルシウム感受性受容体、甲状腺ペルオキシダーゼや膵ランゲルハンス島のGAD65/67に対するものなど、APS-1型で組織傷害の標的となる内分泌組織細胞の細胞内抗原に対するものがよく知られていますが^{3, 4)}、これら細胞質抗原に対する自己抗体がどのようにして組織傷害を引き起こすのかは、実はよくわかっていません。実際には、例えば自己免疫性のI型糖尿病におけるラ氏島 β 細胞の破壊には、CD4陽性T細胞が重要な役割を果たすことがわかっており、内分泌組織における標的細胞の破壊はTリンパ球依存性に起こり、組織破壊の結果として自己抗体が産生される(そして、恐らく組織破壊を助長する)というのが本当のところであろうと考えられています。

一方、I型インターフェロンやIL-17、IL-22などのサイトカインに対する中和抗体の産生は、APS-1型患者では皮膚粘膜カンジダ症の発症に先だって認められることが知られており^{7, 8)}、その出現時期の早さと頻度の高さ、そして高い親和性による中和能力の高さから、病因的意義が高いと考えられています。また、これら抗サイトカイン自己抗体が臨床所見の出現前から持続することから、その診断的意義を認め、診断機基準に含めるべきであるという意見もあります(Aさんの指導医もその立場で発言しています)。

講義では既に抗体分子の構造と機能を解説しており、学生さんたちは抗体による毒素の中和やウイルス感染能の中和の機構を知っている筈です。毒素の中和とのアナロジーで、サイトカインの中和は理解出来ることでしょう。一方、インターフェロンを含むサイトカインについては、学生さんたちは殆ど予備知識を持っていない段階です。週の初めに炎症反応について述べる段階で、サイトカイン一般についてある程度の解説は行っていますが、IL-17やIL-22は勿論、I型インターフェロンについてもまだ詳しい知識は持っていないと考えられます。

ここでは、この事例(金曜日に提示)を契機として、学生さんたちが週末にI型インターフェロンやIL-17, IL-22について自己学習をしてくれることを期待しています。

事例 3 (11月12日・月曜日に提示)

患者さんの血清中には、インターフェロン(IFN)- α とIFN- ω 、及びIL-17, IL-22に対する中和抗体が高値で検出されました。また、遺伝子検査の結果、*AIRE*遺伝子のナンセンス変異がホモ接合で検出されました。

Aさんは、学生時代に免疫学の講義で*AIRE*について教わったことを思い出しました。

キーワード

- ☐ インターフェロン- α
- ☐ インターフェロン- ω
- ☐ IL-17
- ☐ IL-22
- ☐ 中和抗体
- ☐ *AIRE*
- ☐ ナンセンス変異
- ☐ ホモ接合
- ☐ *AIRE*の機能

こんなことを考えてみよう

- ☐ インターフェロンとは、どのような機能を持つサイトカインか？
- ☐ インターフェロンはどこで作られるのか？
- ☐ I型インターフェロンにはどのようなものがあるか？
- ☐ I型とII型のインターフェロンの違いは何か？
- ☐ IL-17とはどのようなサイトカインか？
- ☐ IL-17を作る細胞は何か？
- ☐ IL-22はどこで作られるか？
- ☐ IL-22の標的細胞は何か？
- ☐ IL-22の機能は何だろうか？
- ☐ IL-17やIL-22が中和されるとどのようなことが起こるか？
- ☐ *AIRE*とはどのようなタンパク質か？
- ☐ *AIRE*はどこで発現しているのだろうか？
- ☐ ナンセンス変異とは何か？
- ☐ 患者の遺伝子に異常があるのに、両親や弟が健常なのはどうか？
- ☐ *AIRE*の遺伝子に異常があると、何が起こるのだろうか？
- ☐ *AIRE*の遺伝子に異常があることと、インターフェロンやIL-17, IL-22に対する中和抗体が出来ることとは関係があるのか？

解説

インターフェロン(IFN)は、元々ウイルスに感染した細胞から産生され、周囲にある非感染細胞にウイルス感染に対する抵抗状態を誘導するという、「ウイルス干渉(interference)現象」の原因となるタンパク質として見出された、最初期のサイトカインの仲間です。

ウイルス干渉作用に関わるインターフェロンの仲間としては、複数種類(ヒトでは13種類)のIFN- α と、IFN- β 、- ω 、- ϵ 、- κ 、- τ などから成るI型IFN、リンパ球から産生され獲得免疫反応で重要な役割を果たすIFN- γ のみがそのメンバーであるII型IFN、IFN- λ 1(IL-29), IFN- λ 2(IL-28A), IFN- λ 3(IL-28B), IL-22, IL-24, IL-26から成るIFN- λ サブファミリー

(IFN- λ はⅢ型IFNとも呼ぶ)、そしてIL-10, IL-19, IL-20から成るIL-10ファミリーが分類されています。ここでわかるように、IL-22はサイトカインとしての名前が付けられていますが、むしろインターフェロンの仲間であると考えられます。

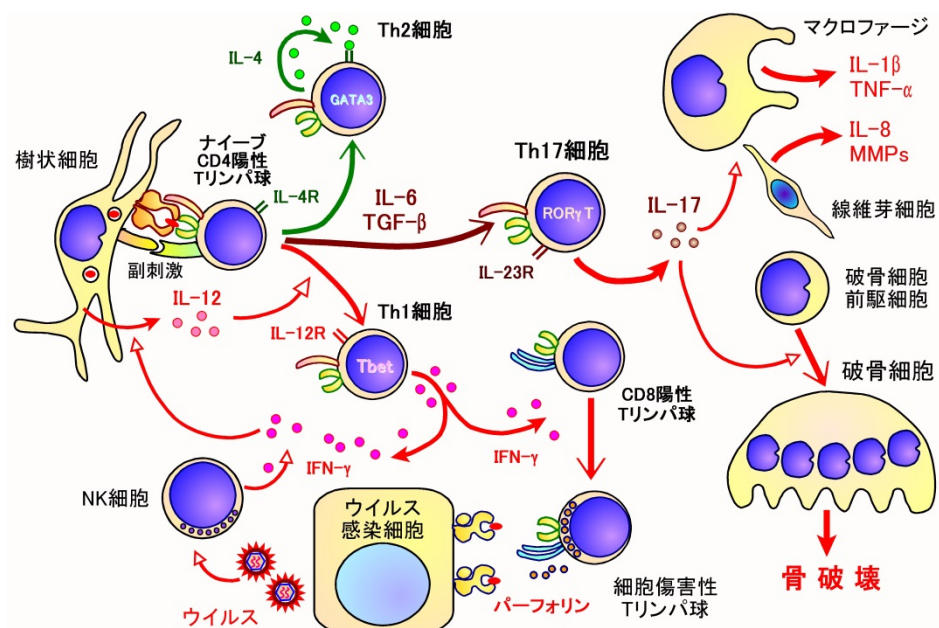
I型インターフェロン(type-I interferon)は、ウイルス感染に伴って樹状細胞(プラスマ細胞様樹状細胞)、マクロファージ、上皮細胞など複数種類の細胞種から産生され、周囲の非感染細胞にウイルス複製を抑制する細胞内因子を発現させることでウイルスの増殖と伝播を抑制し、同時にMHCクラスI分子の発現を増加させて、非感染細胞をNK細胞の攻撃から保護する一方で、NK細胞を活性化させてウイルス感染細胞の除去を促します^{9, 10)}。

I型インターフェロンによるウイルス感染抵抗性誘導機構としてよく知られているのは、2'-5'オリゴアデニル酸合成酵素(2'-5'-OAS)の発現誘導です。2'-5'-OAS系は、通常3'-5'の形で結合しているATPを2'-5'結合オリゴマーに重合させることで、エンドヌクレアーゼRNaseLを活性化し、ウイルスmRNAを分解します。I型インターフェロンはまた、プロテインキナーゼ系を活性化して真核生物蛋白質合成開始因子eIF-2 α をリン酸化することで、ウイルスタンパク質の合成開始を阻止します。インターフェロンによって誘導される抗ウイルス活性遺伝子産物としては、この他にMxA(myxovirus resistance A)が有名です。MxAはミクソウイルス感染細胞におけるアポトーシスとウイルス増殖の抑制を惹き起こしますが、これはMxAが小胞体ストレスを誘導することによるものだと考えられています。また、レトロウイルスやB型肝炎ウイルス、ヒトパピローマウイルスの細胞内複製制限因子であるAPOBEC3も、典型的なインターフェロン刺激誘起性遺伝子(Interferon-stimulated genes: ISG)産物です。

ウイルス感染に伴うI型インターフェロン(特にIFN- β)の発現は、主としてウイルスが作る2本鎖RNA(dsRNA)をエンドソーム内のTLR3や細胞中のRIG-I、MDA5が認識することにより誘導されますが、エンドソームにおけるTLR7/TLR8による一本鎖RNAの検出や、TLR9によるCpG DNAの認識も、MyD88を介して複数種類のI型IFN(複数のIFN- α とIFN- β)の発現を誘導します^{9, 10)}。

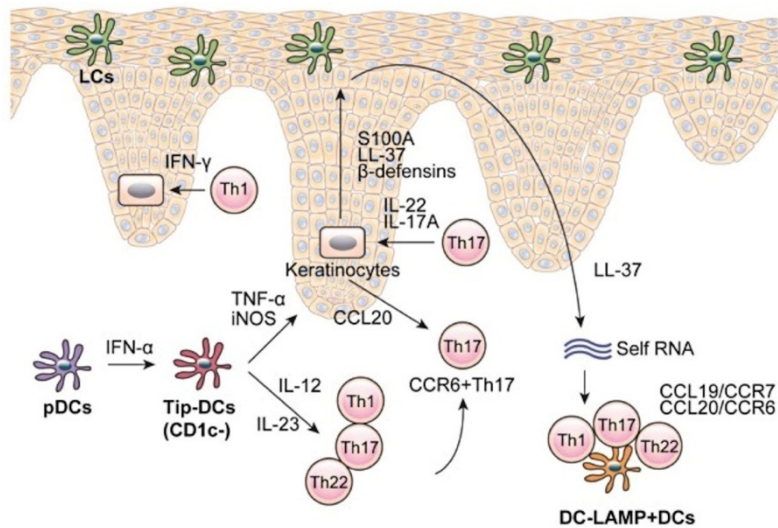
さて、事例2で出て来たIL-17とIL-22ですが、IL-17がCD4陽性エフェクターT細胞のサブセットであるTh17細胞の産生するサイトカインであることは、今週の講義の後半で詳しく学びます。Th17細胞は、細菌や真菌の感染によって引き起こされた炎症病巣で血管を出て病原体を捉えた樹状細胞が、IL-23を産生しつつナイーブCD4陽性T細胞を活性化することでその分化が誘導されるエフェクター細胞で、複数種類のIL-17やIL-22を産生します。このうち、IL-17は角化細胞

などの上皮細胞に働きかけてCXCL1, CXCL-2, CXCL-8(IL-8)などのケモカインを産生させ、好中球やマクロファージを炎症の現場に呼び寄せるとともに、血管内皮細胞や線維芽細胞からのIL-1, IL-6, TNF- α などのサイトカイン産生を促進させ、炎症反応を増強します。IV



型アレルギー反応である接触皮膚炎や実験的アレルギー性脳脊髄炎の発症と持続にも、Th17細胞が重要な役割を果たすことは、来週の講義で詳しく触れます。

これに対して、IL-22は炎症・免疫系の細胞には直接作用せず、主に角化細胞などの上皮細胞に働きかけます¹¹⁾。IL-22の刺激により、表皮角化細胞ではβ-ディフェンシンなどの抗菌作用を保つタンパク質の発現が誘導され^{11, 12)}、細胞増殖が活性化されるとともに、角質への終分化が抑制されます。IL-22の持つこのような機能が、皮膚における常在菌による日和見感染症防止に重要な役割を果たしていると考えられます。



Tae-Gyun Kim, Dae Suk Kim, Hyoung-Pyo Kim and Min-Geol Lee.
BMB Rep. (2014) 472:60–68

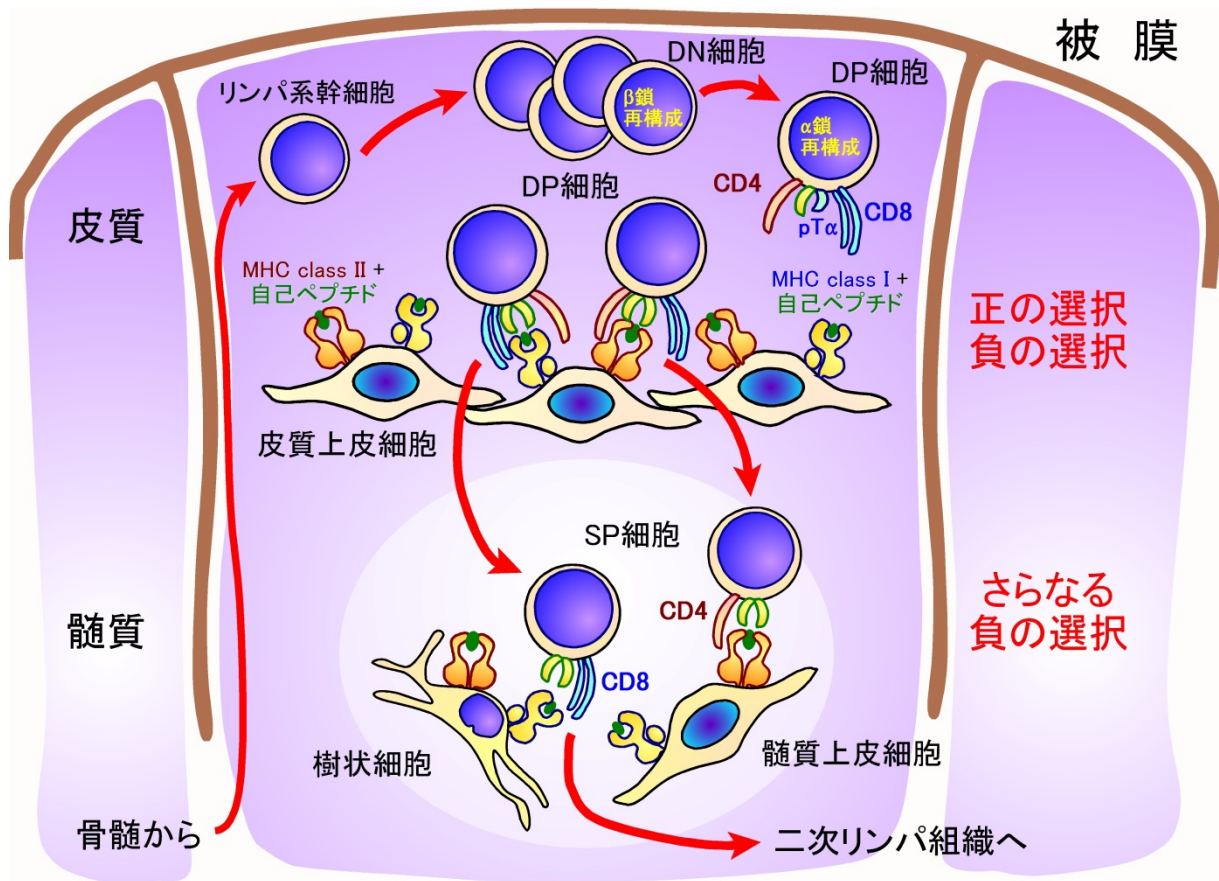
このような観点から、APS-1型患者で皮膚粘膜カンジダ症発症以前から高値を保つIL-22中和抗体の病因論的意義が考えられます⁸⁾。即ち、高い親和性と抗体価を持つIL-22中和抗体の存在により、カンジダなど皮膚粘膜常在菌侵入現場でのIL-22活性が中和されてしまい、IL-22の機能が発揮されない結果、表皮角化細胞など上皮細胞からの抗菌性タンパク質の産生が抑制されてしまい、同時に上皮細胞の増殖も誘導出来なくなって、バリア機能が低下すると考えられます。また、IL-17に対する中和抗体が存在する場合、Th17細胞が活性化しても、上皮細胞からのケモカイン産生や線維芽細胞からの炎症性サイトカイン産生が低下してしまい、侵入した微生物と戦うべき好中球やマクロファージが十分現場に集積出来なくなると考えられます。

なお、APS-1型患者では、ほぼ100%でIFN-ωに対する中和抗体が産生されます。IFN-ωはIFN-αとアミノ酸配列レベルで60%の相同性があり、IFN-αと同等の抗ウイルス活性を示す他、ヒトでは抗腫瘍活性も高いとされます¹³⁾。IFN-ωに対する中和抗体が高頻度で存在することは、単に診断的意義を持つだけでなく、APS-1型患者で食道癌の頻度が高いことなど⁶⁾、腫瘍発生とも関連する可能性があります。

さて、事例3では患者におけるAIRE遺伝子のナンセンス変異が見つかりました。

AIRE (autoimmune regulator) は、APS-1型患者の原因遺伝子をマッピングすることで発見された遺伝子ですが(総説として文献14を参照)、その機能は胸腺におけるTリンパ球抗原受容体(T-cell receptor: TCR)の負の選択と密接な関わりがあります。

この週の水曜日以降の講義で詳しく触れる通り、胸腺に流入したリンパ系共通幹細胞は皮質被膜下領域(subcapsular cortex)に強く発現しているIL-7とc-kit ligandに反応して激しく分裂増殖し、生じたdouble negative細胞はまずTCR β鎖の遺伝子再構成を行います。この過程では、可変部V-D-J断片の組合せによるよりも、結合部への鋳型の無い塩基挿入によるjunctional diversityの形成がより重要な役割を果たす点が、免疫グロブリン可変部再構成との違いになります。TCR β鎖の再構成に成功してβ鎖のポリペプチドが発現すると、pTαとともに細胞表面に発現し、CD4, CD8がともに陽性のdouble positive細胞となって、今度はTCR α鎖の遺伝子再構成が起こります。TCR α鎖遺伝子の再構成が、junctional diversity



を含めて成功すると、 $\alpha \cdot \beta$ のヘテロダイマーから成るTCRがdouble positive細胞の表面に発現しますが、この段階で胸腺皮質の上皮細胞が発現する自己MHC分子と自己タンパク質由来ペプチドの複合体により、TCRに対して正の選択と負の選択が同時に起こります。

正の選択とは、自己MHC分子に自己ペプチドの嵌まった複合体とある程度以上の親和性で結合出来るTCRを選び出すことで、自己MHC+自己ペプチド複合体と全く結合出来ない、「役に立たない」TCRを形成してしまったTリンパ球前駆細胞は、「役に立つ」TCRが出来るまでTCR α 鎖の再構成を繰り返します (receptor editing)。胸腺皮質の上皮細胞はMHC class I分子もclass II分子も同時に発現していますから、正の選択はMHC class I+ペプチド複合体に対しても、class II+ペプチド複合体に対しても同時に起こり、class I+ペプチド複合体とある程度結合出来るTCRを持ったdouble positive細胞はCD8分子からのシグナルが入ることによりCD4の発現を停止してCD8 single positive細胞となり、class II+ペプチド複合体を認識出来るTCRを持ったdouble positive細胞は、CD4 single positive細胞に分化します。即ち、double positive細胞がsingle positive細胞に変わるのも、正の選択の一環です。

一方、胸腺皮質の上皮細胞上に発現するMHC class Iまたはclass II+ペプチド複合体と強く結合するTCRを発現してしまったdouble positive細胞は、アポトーシスに陥ります。これが、第1段階の負の選択です。

皮質で正の選択と負の選択を同時に受けsingle positiveとなったTリンパ球前駆細胞は、ケモカイン受容体へのシグナルを受けて髄質へと移動します。髄質には髄質上皮細胞 (medullary thymic epithelial cells: mTEC) と、骨髄で形成されたリンパ系共通幹細胞に由来する樹状細胞があり、これらの細胞が発現する自己MHC+自己ペプチド複合体により、single positive細胞に対して更に念入りの負の選択が行われ、自己反応性TCRを持った細胞がアポトーシスによって取り除かれます (clonal deletion)。

ところで、もしもmTECや髄質の樹状細胞に発現するタンパク質が、これらの細胞に固有のものだけであるとすると、胸腺で発現している抗原に対しては負の選択が起こりますが、全身

の非胸腺組織でその組織だけに発現している抗原（組織特異的抗原：tissue-specific antigens）に対しては負の選択が行えないということになってしまいます。この謎を解くカギがAIREです。AIREは転写制御因子として機能し、mTEC（と髄質の樹状細胞）で全身各組織の組織特異的抗原を発現させます¹⁴⁾。実際、mTECでは染色体上の全遺伝子の半数近くが同時に発現していると言われます。

実験的にも、強制的にAIREを発現させた細胞によって組織特異的抗原に対する負の選択を誘導出来ること、AIREが発現していても、ラ氏島の β 細胞で発現する遺伝子がmTECで発現しないようにした遺伝子改変マウスでは、I型糖尿病が発症することがわかっています¹⁴⁾。

APS-1型患者では、このAIREの遺伝子に変異が認められます。APS-1型患者で検出されているAIRE遺伝子の変異には、既に70種類以上が報告されていますが³⁾、特に北欧において最も頻度が高いのが257番目のアルギニンがストップコドンとなるナンセンス変異です⁸⁾。AIREの遺伝子変異の種類と病態とはある程度の相関が見られ、R257XやR139XのようなC-末端側の欠失が大きなナンセンス変異ではIL-22中和抗体の産生頻度も皮膚粘膜カンジダ症の発症頻度も高いとされます（前頁の表）。それに対して、C-末端側アミノ酸残基の欠失が少ない欠失変異や、欠失無しにアミノ酸残基の置換が起こるミスセンス変異では、IL-22中和抗体の産生や皮膚粘膜カンジダ症の発症頻度がやや低く、発症経過の長い例が多くなる傾向があるようです⁸⁾。

第21染色体にあるAIREの機能的変異がホモ接合となった場合にAPS-1型を発症することが殆どですので、この疾患は原則として常染色体劣性遺伝を示すことになります。

事例 4 (11月14日・水曜日に提示)

Aさんは、AIREの遺伝子異常により、胸腺髄質におけるT細胞抗原受容体の負の選択がうまく行かなくなること理解しました。しかし、AIREの遺伝子異常で自己反応性Tリンパ球の出現を説明できても、I型インターフェロンや副甲状腺上皮細胞のタンパク質など、自己抗原と強く反応する抗体の出現を説明することはできないと思いました。AIREは、自己反応性Bリンパ球の排除にも関わっているのでしょうか？

学生時代に免疫学の講義で教わった、自己反応性Bリンパ球排除のしくみも復習しないといけないと感じました。

キーワード

- ☐ AIRE
- ☐ 遺伝子異常
- ☐ 胸腺髄質
- ☐ T細胞抗原受容体
- ☐ 自己反応性Tリンパ球
- ☐ 自己抗原
- ☐ 高親和性抗体
- ☐ 自己反応性Bリンパ球
- ☐ Bリンパ球の選択

こんなことを考えてみよう

- ☐ Bリンパ球が抗体を産生するためには、どのような刺激が必要か？
- ☐ Bリンパ球はどこで分化するのか？
- ☐ 自己反応性Bリンパ球は、どこでどのように排除されているのか？
- ☐ 抗体の産生にTリンパ球が果たす役割は何か？
- ☐ 自己反応性T細胞の存在と自己抗体産生の関係は？
- ☐ どうして自己のサイトカインを中和できるような抗体が生じるのか？
- ☐ AIREの変異と自己サイトカイン中和抗体産生の関係は？

解説

事例4では、胸腺における自己反応性Tリンパ球除去の異常が、どうしてサイトカイン中和抗体など、高親和性の自己抗体産生に結び付くのかを考えます。学生さんたちは既に火曜日の講義で自己反応性Bリンパ球除去の機構を学んでいますので、講義の内容を良く理解している学生さんにとっては、この事例でAさんの抱いた疑問の半分は説明可能である筈です。一方、T-B細胞間相互作用に関する詳しい講義はこの週に金曜日に予定していますから、その部分についてはこの事例を学ぶことが予習の役割を果たします。しかし、免疫グロブリン遺伝子可変部の体細胞高頻度突然変異と親和性成熟については既に概略を講義していますので、事例4の理解はある程度自力で進められる筈です。

TCRと同じく、Bリンパ球抗原受容体(BCR)、即ち免疫グロブリン分子可変部も、ランダムな多様性形成とその後の選択によってあらゆる非自己構造と反応可能なレパトアが形成されます。

BCRの可変部多様性形成は骨髄で起こり、Bリンパ球前駆細胞でまず重鎖可変部のV-D-J組換えが起こり、これに成功して μ 鎖のタンパク質が発現すると、軽鎖可変部のV-J組

換えが進行します。重鎖可変部のV-D-J組換えにjunctional diversityの形成が加わることはTCR β 鎖と同様ですが、免疫グロブリン遺伝子の場合、軽鎖可変部のV-J組換えではjunctional diversityが多様性形成に果たす役割は小さくなります。これは、軽鎖可変部のV-J組換えが起こる段階では、N-ヌクレオチドの挿入に関わるTdT酵素の発現が低下しているからです。

ランダムに形成されたBCRに対して、まず骨髄で負の選択、即ち自己反応性BCRの除去が起こりますが、以前の教科書に書かれていたような自己反応性細胞のアポトーシスによる除去(clonal deletion)は、実際には殆ど生じないことがわかっています。それに対して、骨髄における自己反応性BCR除去に主要な役割を果たしているのは、TCR α 鎖でも起こったreceptor editingです。

骨髄で未熟Bリンパ球に発現したBCRが、その場に存在する自己抗原と反応した場合、免疫グロブリン遺伝子可変部の再構成に関わるDNA組換え酵素Rag1/Rag2の発現が続き、軽鎖V-J組換えが継続します。一旦組換えたV-J断片の組より更に上流のV断片と下流のJ断片を用いて、軽鎖可変部を作り直す訳です。これによりBCRが骨髄に存在する自己抗原と反応しなくなれば、Rag1/Rag2の発現は停止し、それ以上のV-J組換えは起こりません。一方、editingを行っても発現するBCRが自己反応性であれば、更にV-J組換えが続きます。利用可能な全てのJ断片を使い尽くしてしまえば、そのような未熟Bリンパ球はアポトーシスに陥ります。

これが、自己反応性Bリンパ球除去の第1段階です。

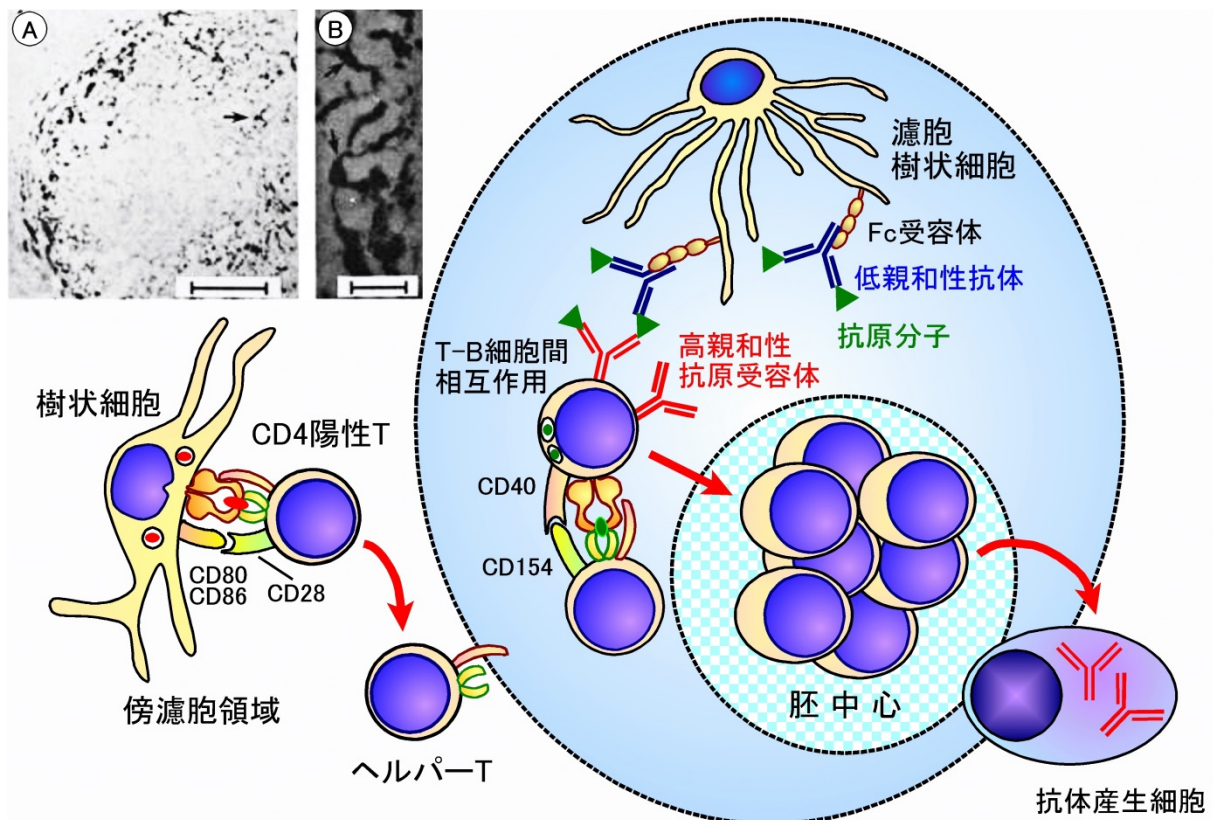
こうして骨髄における第1段階の選択を経た未熟Bリンパ球は、膜型IgM単独陽性細胞となり、骨髄を離れて脾臓へと移動します。上記の説明で明らかな通り、この段階での負の選択は骨髄に存在する自己抗原によってしか行われていませんから、骨髄を離れる未熟Bリンパ球の持つBCRは、そのおよそ40%が自己反応性です。

脾臓に流入した未熟Bリンパ球はまず赤脾髄に放出され、膜型IgDを発現し始めて移行型Bリンパ球(T1B細胞)となります。この段階のBリンパ球前駆細胞はアポトーシスに陥りやすく、赤脾髄に存在する自己抗原と反応するとアポトーシスを起こしてclonal deletionが生じます。これが自己反応性Bリンパ球除去の第2段階です。

T1B細胞は脾臓の辺縁洞を通過して白脾髄に移動し、膜型IgDの発現が上昇したT2B細胞へと分化します。T2B細胞は短寿命ですが、白脾髄の濾胞に向かって移動することで濾胞樹状細胞の発現するBAFFの刺激を受け、膜型IgDの発現がIgMより高い濾胞型Bリンパ球へと分化します。白脾髄で濾胞へと移動する途中でそこにある自己抗原と反応したT2B細胞は、濾胞への移動に必要なケモカイン受容体CXCR5のシグナルが遮断され、濾胞に移動する前に寿命が尽きてしまいます。これが自己反応性Bリンパ球除去の第3段階です。成熟した濾胞型のBリンパ球は、脾臓から全身のリンパ組織に分布して行きます。

こうして、濾胞型Bリンパ球は脾臓で2段階の負の選択を受けますが、それでもなお、そのBCRは20%が自己反応性です。これは、骨髄や脾臓で発現している自己抗原でしか負の選択を受けていないのですから、当然の帰結です。それなのに、成熟濾胞型Bリンパ球の20%も存在している自己反応性細胞は、通常は抗体産生細胞となることはありません。これは、細菌細胞壁の糖鎖など、繰り返し構造を持つ一部の抗原(T細胞非依存性抗原)に対する抗体産生を除き、タンパク質性の抗原に対する抗体産生にはTリンパ球とBリンパ球の相互作用が必要だからです。

Bリンパ球は抗原提示能を持ち、BCRを介して結合したタンパク質性抗原を取り込んでエンドソームで分解し、生じたペプチドをMHC class II分子上に提示します。こうしてBリンパ球が提示するMHC class II+ペプチド複合体を認識できるCD4陽性エフェクターT細胞、即ち



ヘルパーT(Th)細胞が存在すれば、Th2細胞はCD40Lを発現して抗原を取り込んだBリンパ球を活性化させ、その分裂増殖と抗体産生細胞への分化を誘導します。その際、Th細胞の作るサイトカインが、クラススイッチの方向性を決定します。

成熟した濾胞型のBリンパ球の中に、自己反応性のものが20%もあっても、それらがBCRで結合して取り込んだ自己抗原タンパク質に由来する自己ペプチドを認識できるTh細胞はありません。何故なら、TCRは胸腺髄質で厳格な負の選択を受けているからです。このように、自己抗原ペプチドを認識できるTリンパ球が存在しないために自己反応性Bリンパ球が活性化できないしくみを、自己反応性B細胞排除の最終チェックポイントと称します。

このようなしくみは、リウマチ熱など、微生物感染を引き金に自己抗体産生が誘導されるメカニズムをもよく説明します。即ち、自己反応性Bリンパ球は完全には除けていない訳ですから、骨髄や脾臓以外の、例えば心筋組織などに存在する自己抗原と反応できるBリンパ球は、末梢のリンパ組織に元々存在している訳です。それらの中には、微生物由来のタンパク質と自己抗原タンパク質とで交差反応性(分子相同性)のあるエピートプを認識するものもあるでしょう。微生物感染によって生じた、自己抗原と交差反応性のある異物タンパク質を結合した自己反応性Bリンパ球は、当該微生物タンパク質を取り込み、分解して微生物タンパク質由来のペプチドをMHC class II分子に提示します。自己抗原ペプチドを認識するTh細胞はいませんが、感染してきた微生物タンパク質由来ペプチドを認識するTh細胞ができていますから、交差反応性のBCRを持つB細胞は活性化し、「自己抗体」を産生します。

T-B細胞間相互作用の重要な帰結として、抗体可変部の親和性成熟が起こります。活性化したBリンパ球ではactivation-induced cytidine deaminase (AID) の発現が誘導され、免疫グロブリン遺伝子可変部では体細胞高頻度突然変異(somatic hyper mutation: SHM)が、また定常部ではクラススイッチ再配列が進行します。SHMはランダムに起こりますので、高頻度突然変異が加わった可変部の産物の中には、最初にBCRに結合した抗原をより強く結合できるようになったものも生じれば、結合能が低下したものも、結合能を失ったものも生じる筈です。そればかりか、高頻度突然変異によって自己反応性を獲得した可変部が形成され

ることもあるでしょう。実際、T-B細胞間相互作用によって形成され、SHMが活発に進行している胚中心では、自己反応性BCRの頻度が高まっていることが示されています。

通常は、SHMによって最初に抗体産生を誘導した抗原に対する結合能が高まったBCRを持つようになったBリンパ球だけが、濾胞樹状細胞上にある既に産生された抗体と抗原の複合体から抗原タンパク質を奪い取り、これを取り込んでペプチドを提示することで、T-B細胞間相互作用を続けることが出来ます(上の図)。SHMによって自己反応性を獲得したBリンパ球が出現しても、そのような細胞は樹状細胞上の抗原タンパク質を取り込むことはできませんし、たとえその場にある自己抗原を取り込んだとしても、それに由来するペプチドを認識できるTh細胞はありません。こうして、SHMに胚中心における選択が加わる結果、抗体可変部の親和性成熟が生じます。

APS-1型患者では、AIREの遺伝子異常により組織特異的自己抗原に対するTCRの負の選択が不十分です。胸腺で発現しない自己抗原タンパク質に対してTリンパ球が活性化される結果、複数の内分泌組織に対する自己免疫反応が起こり、組織傷害に結び付くと考えられます。一方、末梢組織ではウイルス感染などに伴ってI型IFNが活発に産生されます。ナイーブなTリンパ球に対する抗原提示能が高い樹状細胞が、ウイルス感染に対してI型IFNを産生することは、それ由来のペプチドを認識する自己反応性Tリンパ球の活性化に結び付くと容易に理解されます。

ウイルス感染や細菌感染に対して抗体産生が起こっている現場では、Bリンパ球が活発にSHMを起こしています。SHMの結果、自己抗原であるI型IFNやIL-22などのサイトカインに対する結合能を獲得したBCRが形成されることもあるでしょう。通常は、自己のサイトカイン由来のペプチドを認識できるTh細胞など存在する筈ありません。ところが、APS-1型患者では、そのような自己反応性T細胞が取り除かれていません。むしろ、上記のようにウイルス感染や炎症を契機にI型IFNやサイトカイン由来のペプチドを認識するTh細胞が活性化されている可能性すらあります。そうすると、自己のIFNやサイトカインと反応性を持ったBリンパ球が活性化し、高親和性の抗サイトカイン抗体産生に結び付くと考えられます。実際、APS-1型患者で検出される抗IFN抗体産生B細胞では、その可変部遺伝子に高度のSMHが加わっていることが証明されています¹⁵⁾。こうして産生されたサイトカイン中和自己抗体が、皮膚粘膜カンジダ症など、免疫抑制性の病態形成に関与すると考えられます。

11月16日・金曜日のテュートリアルでは、事例は提示しません。事例に関してこれまで行った自己学習の成果を纏め、グループで事例の全体像を考えて下さい。各グループにおける事例の全体像の理解は、次週金曜日(11月22日)の事例発表会と、レポートを通じて評価します。

文献

- 1) O'Gorman, C. S. *et al.* A child with autoimmune polyendocrinopathy candidiasis and ectodermal dysplasia treated with immunosuppression: a case report. **J. Med. Case Rep.** 2013, 7:44.
- 2) Sato, K. *et al.* A novel missense mutation of AIRE gene in a patient with autoimmune polyendocrinopathy, candidiasis and ectodermal dystrophy (APRCED), accompanied with progressive muscular atrophy: case report and review of the literature in Japan. **Endocrine J.** 2002, 49:625-633.
- 3) Wailer, S. G. *et al.* Autoimmune polyendocrine syndrome type 1: case report and review of literature. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** 2012, 56:54-66.
- 4) 千田 奈津子, 小林 一郎. 中枢性免疫寛容不全と末梢性免疫寛容不全における標的抗原特異性. **Jap. J. Clin. Immunol.** 2015, 38:142-149.
- 5) 小児慢性特定疾患情報センター. 自己免疫性多内分泌腺症候群1型.

https://www.shouman.jp/disease/details_05_16_029/

6) Michels, A. W. and Gottlieb, P. A. Autoimmune polyglandular syndrome. **Nature Rev. Endocrinol.** 2010, 6:270277.

6-1) Kashem, S. W. and Binstadt, B. A. Pathogenic and protective autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). **Antibodies** 2017, 6:1.

7) Meagr, A. *et al.* Anti-interferon autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy syndrome type 1. **PLoS Med.** 2006, 3:e289.

8) Kisand, K., *et al.* Mucocutaneous candidiasis and autoimmunity against cytokines in APECED and thymoma patients: Clinical and pathogenetic implications. **Eur. J. Immunol.** 2011, 41:1517-1527.

9) 米山 光俊, 藤田 尚志. ウイルス感染に応答した I 型インターフェロン遺伝子の発現誘導メカニズム. **ウイルス** 2004, 54:161-168.

10) 植松 智, 審良 静男. 自然免疫におけるウイルス感染認識機構. **ウイルス** 2006, 56:1-8.

11) Fujita, H. The role of IL-22 and Th22 cells in human skin diseases. **J. Dermatol. Sci.** 2013, 72:3-8.

12) 富田 哲治, 長瀬 隆英. 生体防御機構としてのディフェンシン. **日老医誌** 2001, 38:440-443.

13) Li, S.-f. *et al.* Interferon-omega: Current status in clinical applications. **Int. Immunopharmacol.** 2017, 52:253-260.

14) 山口 良考, 清水 信義. 自己免疫疾患解明への新しい突破口: "AIRE"を中心として. **生化学** 2015, 87:362-372.

15) Meyer, S. *et al.* AIRE-deficient patients harbor unique high-affinity disease-ameliorating autoantibodies. **Cell** 2016, 166:582-595.