

わかりやすいRAサイトカインのネットワーク

大塚 毅 宗像医師会病院 内科
(2009年、第10回博多リウマチセミナー)

サイトカインは情報伝達分子

ホルモンと受容体の構造や作用機序は類似。
しかし、産生臓器は限定されず比較的局所に作用。

神経・免疫・内分泌系など高次機能のコミュニケーションを担う。細胞接着因子やケモカインなども情報伝達する。

ケモカインも含めると50種類以上ある。
ひとつのサイトカインには多機能があり、異なるサイトカインが類似機能を持つことが多い。
サイトカインは免疫系だけでなく、生体内のさまざまな細胞間のクロストークを担う。すべての病態にサイトカインは関与する(図1)。

たとえば、実験的に関節炎を起こさせると急性期にはIL-1やIL-6が誘導され、ついでIL-2/IL-4やIFN γ さらに炎症の終結段階ではIL-10などが産生される(図2)(1)。

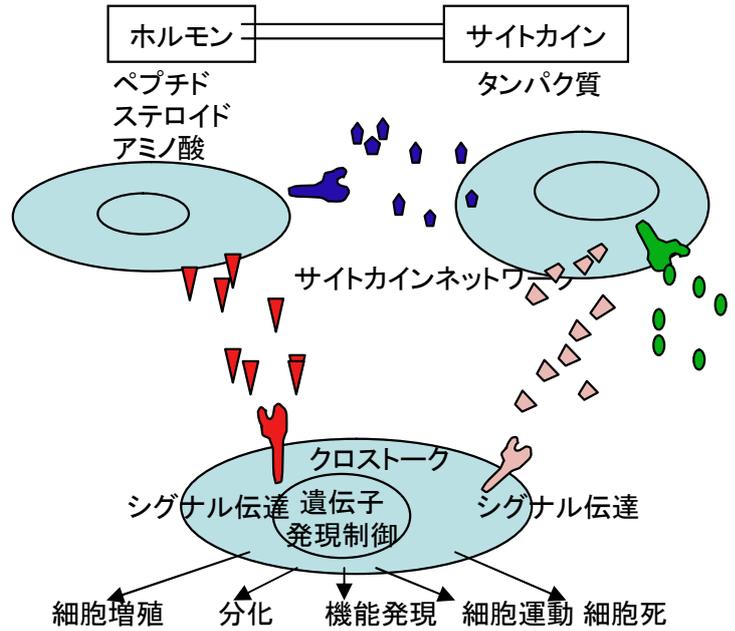


図1 サイトカインはホルモンと似ている

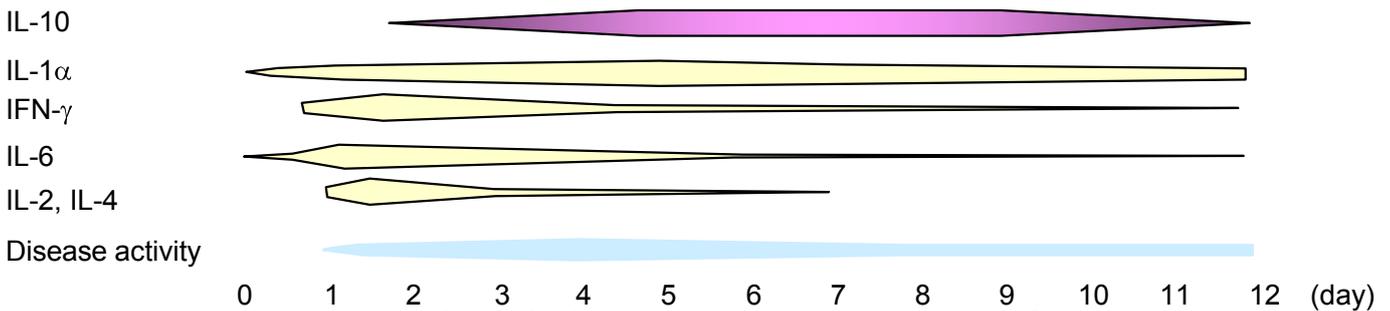


図2 実験的関節炎におけるサイトカイン発現の動き

サイトカインの分類 (サイトカインに対していろいろな捉え方がある)

- ・受容体の型
 - クラス I (IL-2, IL-3, IL-6, IL-12, G-CSF など)
 - クラス II (IFN, IL-10, IL-22 など)
 - IL-1受容体ファミリー (IL-1, IL-18 など)
 - TNF/Fas受容体
 - TGF- β 受容体
 - チロシンキナーゼ型受容体
 - ケモカイン受容体

- ・産生細胞の特徴
 - 免疫系細胞に特徴的に産生される
 - いろいろな細胞 (免疫系以外でも) 産生される

サイトカインそのものが医薬に生物学的製剤
コロニー刺激因子 (M-CSF, GM-CSF, G-CSF) エリスロポエチン (EPO)
インターフェロン (IFN) α , β , γ
IL-2による活性化リンパ球の応用
VEGFによる血管新生
bFGFによる皮膚再生の促進

発見・命名の順番による分類 (構造や作用とは関係なし)
インターロイキン (IL) : IL-1, 2, 3, 4-----26

生物学的機能による分類
インターフェロン (IFN) : a, b, g
腫瘍壊死因子 (TNF) : a, b
形質転換成長因子 (TGF) : a, b
コロニー形成因子 (CSF) : G, GM, M
など

中和 (阻害) 抗体による治療
抗TNF α 抗体・可溶性TNFレセプター (RA・クローン病)
抗IL-6受容体抗体 (RA)
IL-1受容体アンタゴニスト (IL-1Ra)
(RA・Muckle-Wells症候群)
抗CD20抗体 (B細胞)
抗CTLA4抗体 (T-APC結合)

表1 20世紀のヘルパーT細胞の分類

	Th1	Th2
IL-2	++	+/-
IFN- γ	++	+/-
IL-4	-	++
IL-5	-	++
IL-6	-	++
IL-3	++	++
GM-CSF	++	+
IgG2A	++	+
IgE	-	++

B細胞

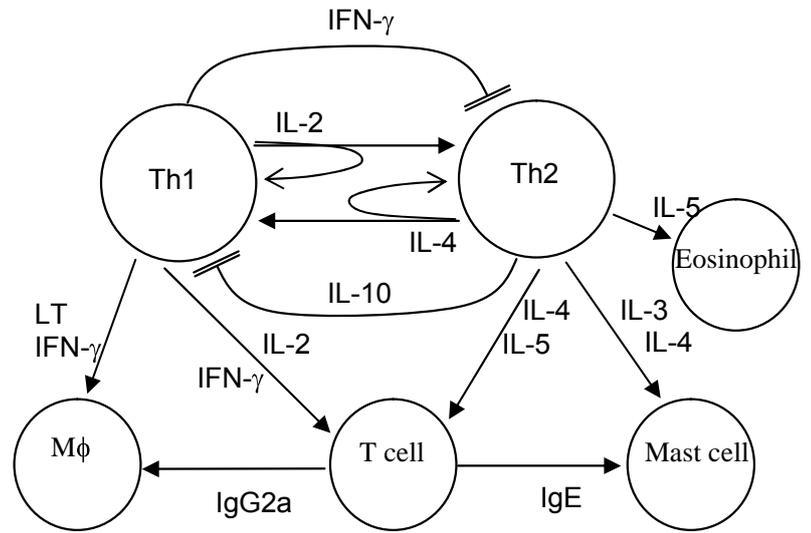


図3 Th1/Th2バランスの考え方とサイトカイン

サイトカイン遺伝子の同定(1980~90年代)により、ヘルパーT細胞はIL-2やIFN γ を産生するがIL-4, IL-5, IL-6を産生しないTh1と、その反対の産生パターンを示すTh2に分けられることがわかった(2)。これらのサイトカインの作用を総合すると、細胞性免疫(細胞内寄生体)と液性免疫(細胞外寄生体)という免疫の基本形式がヘルパーT細胞を中心に形成され、Th1とTh2が互いに制御しつつ免疫反応が成立していく過程の理解が深まった。

自己免疫疾患をサイトカインネットワーク

サイトカインの知識は病態の一般的理解には役に立つとともに、RA病態に関連するサイトカインについて多くのことがわかってきた。その結果

- (1) TNF α やIL-6などは代表的なもので、これらを阻害することがRA治療につながった(図4)。インフリキシマブ(レミケード) エタネルセプト(エンブレル) アダリムマブ(ヒュミラ) トシリズマブ(アクテムラ)
- (2) 期待されたサイトカインでも関節炎モデルや臨床治験で有効性に乏しかったものも多い。
IL-2阻害 CD4阻害
IL-1受容体アンタゴニスト(IL-1Ra) IL-10
IL-4 IL-13
- (3) サイトカインのシグナル伝達を標的としたRA治療法の開発が進む素地ができてきた。
- (4) 臓器障害性疾患
→発症機序は疾患ごとに異なる。
→自己免疫疾患を分子レベルで説明するときに、RA関節炎はTh1が優位であると推測されてきたが具体的な実証はなく問題点が多かった。免疫・炎症の出発点であるヘルパーT細胞の役割が見えてこない事象が多かった(5)。
その後、新たに認知されたTh17は自己免疫疾患の病態解析で新たな焦点を当てている。

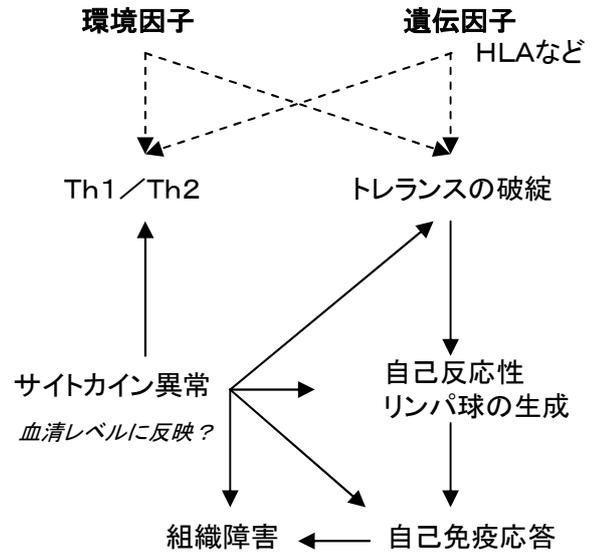


図5 サイトカインネットワーク異常

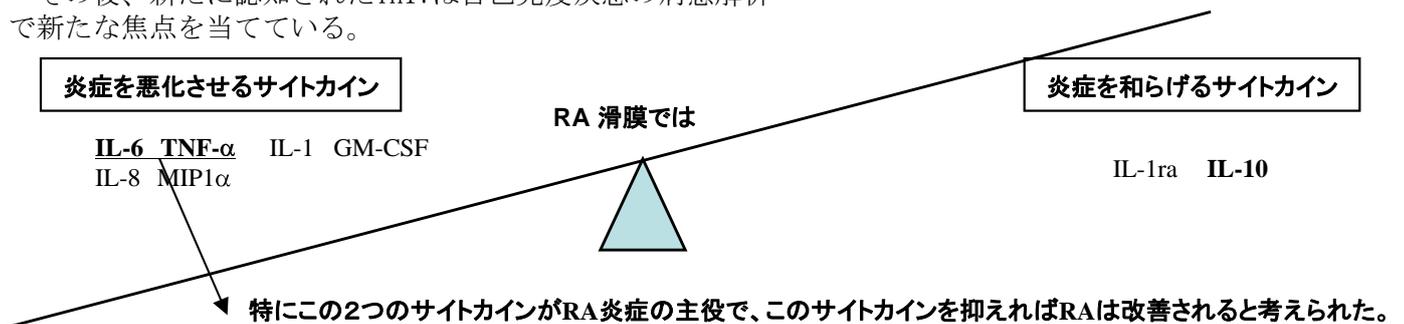


図4 RA関節炎局所におけるサイトカインバランスの考え方

表2 RAにおけるIL-10の役割 (増殖滑膜細胞におけるサイトカインの動態) 文献3より改変

RA患者滑膜にanti-IL-10 抗体添加時		TNF α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (ng/ml)	IL-8 (ng/ml)
Day1	isotype control	1,168 \pm 380	1,542 \pm 660	142 \pm 56	258 \pm 79
	anti-IL-10	2,236 \pm 649	2,899 \pm 991	160 \pm 61	271 \pm 76
Day3	isotype control	295 \pm 134	1,761 \pm 1,284	276 \pm 83	510 \pm 161
	anti-IL-10	1,025 \pm 505	2,513 \pm 1,665	280 \pm 80	514 \pm 142
Day5	isotype control	173 \pm 92	381 \pm 210	282 \pm 73	419 \pm 95
	anti-IL-10	1,024 \pm 781	1,170 \pm 516	272 \pm 59	535 \pm 121

RA患者滑膜にIL-10 添加時		TNF α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (ng/ml)	IL-8 (ng/ml)
Day1	control	1,145 \pm 418	1,708 \pm 85	135 \pm 63	227 \pm 77
	IL-10	563 \pm 210	1,098 \pm 725	125 \pm 56	200 \pm 69
Day3	control	301 \pm 133	1,563 \pm 1,168	248 \pm 86	479 \pm 147
	IL-10	106 \pm 36	1,317 \pm 1,041	242 \pm 83	449 \pm 135
Day5	control	185 \pm 100	407 \pm 147	241 \pm 65	438 \pm 100
	IL-10	55 \pm 24	204 \pm 89	231 \pm 60	308 \pm 76

RA患者滑膜にanti-IL-10 抗体を添加すると 炎症性サイトカインは増強されることからIL-10は関節炎局所において炎症抑制的に作用していることがわかる。RA患者滑膜にIL-10 を追加添加すると炎症性サイトカインは抑制されるから、IL-10は炎症抑制効果を持っていることがわかる。関節炎局所はこのように炎症を惹起したり抑制したりするサイトカインが混然一体となっているが、ヘルパーT細胞の重要性はこれらの研究成果から導かれることは少なかった(3, 4)。

TNF α とIL-6の生物学的活性の多くはRAに認められる種々の臨床症状、検査所見の異常を説明することができた(表3) (5)。両サイトカインを阻害する生物学的製剤はRA治療において画期的な成果をもたらした。種々の抗リウマチ薬の有効性の発現は図6のような考え方で捉えることができる。

表3 RA病態におけるIL-6の役割

抗体産生誘導	→ 高 γ グロブリン血症、RF出現・増加
T細胞活性化	→ 関節炎へのTリンパ球増加 リンパ球浸潤
急性期反応の誘導	→ CRP
	→ フィブリノーゲン上昇
	→ 血清アルブミンの低下
接着分子の発現誘導	→ アミロイドの沈着
巨核球成熟の誘導	→ 血小板増加
VEGFの誘導	→ 滑膜での血管新生
破骨細胞活性化	→ 骨吸収

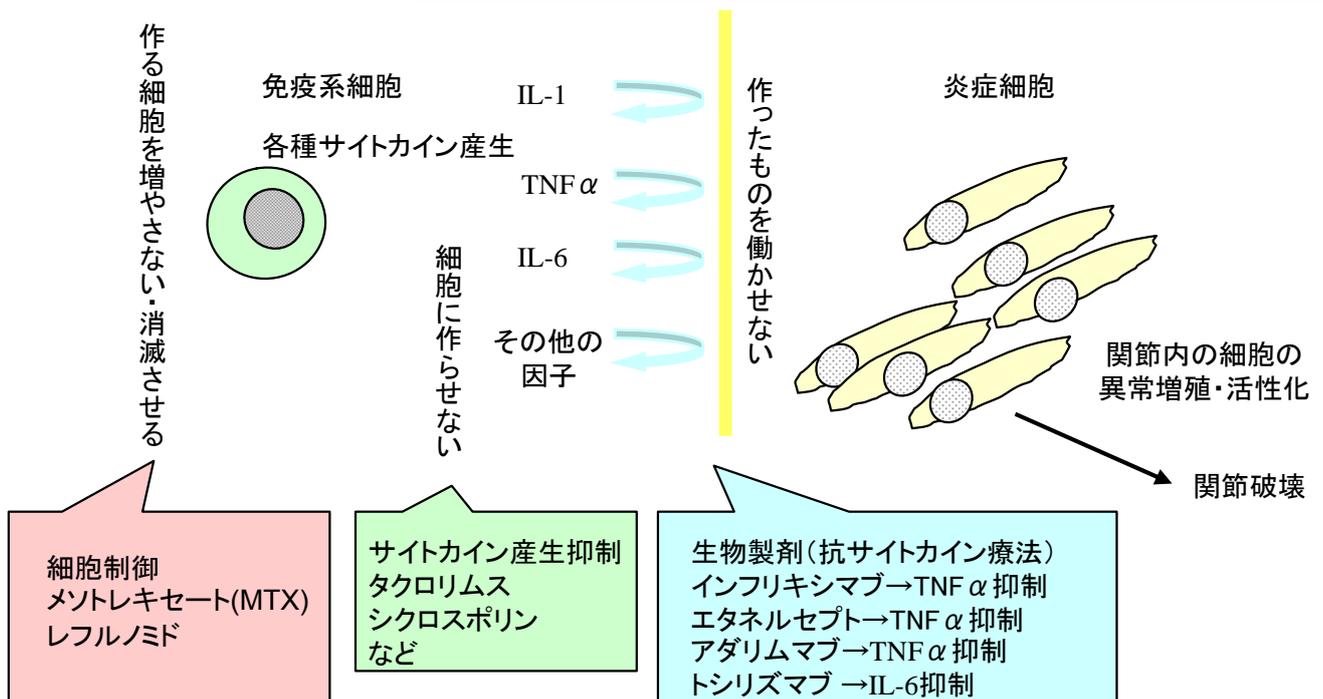


図6 抗リウマチ薬の効き方

RA病態形成で特に注目されるサイトカイン

IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, IL-21, IL-23, TNF, TGFなど

IL-17は活性化T細胞から産生されるがTh1やTh2からは産生されない。しかも、いろいろな細胞に働いて炎症反応を惹起した。IL-17を産生するT細胞はTh1やTh2と異なるメカニズムで分化し、新たにTh17と呼ばれTNF, IL-21, IL-22を産生するのが特徴。Th1やTh2の分化に必要なT-bet, GATA3, STATが欠損してもTh17が分化してくることもTh17の重要性を物語っている(6, 7, 8, 9)。

IL-17は相同性のある6種類(A-F)あり。

IL-17欠損マウスではコラーゲン関節炎発症の免疫応答がなく(10)、コラーゲン関節炎に対してIL-17の中和抗体は治療効果を示した(11)。

SKGマウス関節炎

約半数のマウスでリウマチ因子陽性・抗DNA抗体陰性・高免疫グロブリン血症。慢性進行ののち関節破壊。パンヌス形成・血管新生を伴う滑膜細胞増殖。骨軟骨破壊。リウマチ結節様皮膚炎、血管炎、間質性肺炎を散見する。糸球体腎炎は合併しない(12)。

関節炎を発症したSKGマウスのCD4+T細胞をT細胞欠損ヌードマウスやT/B細胞欠損SCIDマウスに養子移入すれば関節炎発症

IL-6, IL-4, IFN γ , IL-17をそれぞれ欠損するSKGマウスの関節炎発症を調べたところ、IL-6あるいはIL-17欠損マウスで関節炎を発症しなかった。

Th1, Th2依存性でなくTh17依存性であると考えられる。

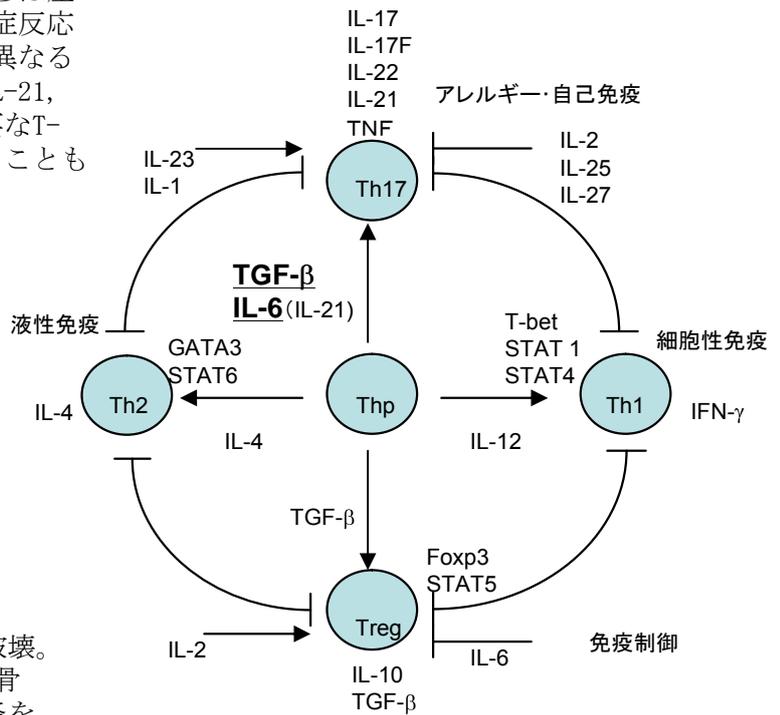


図7 Th1/Th2/Th17およびTregの分化と相互関係

文献(14)より引用

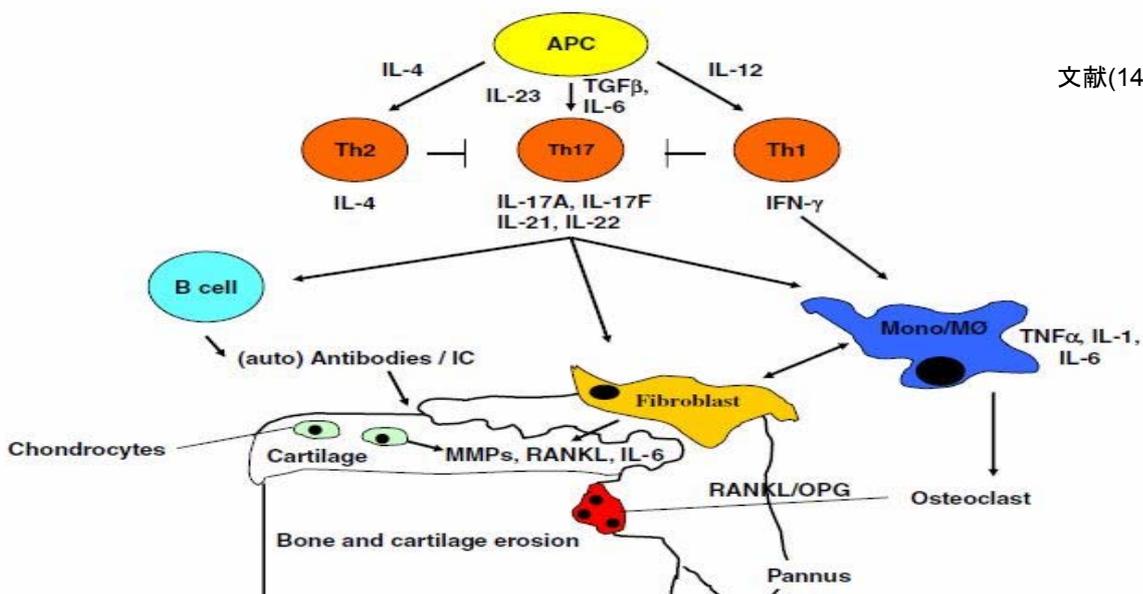


図8 RA滑膜炎から関節破壊にいたるIL-17/Th17の位置づけとサイトカインネットワーク

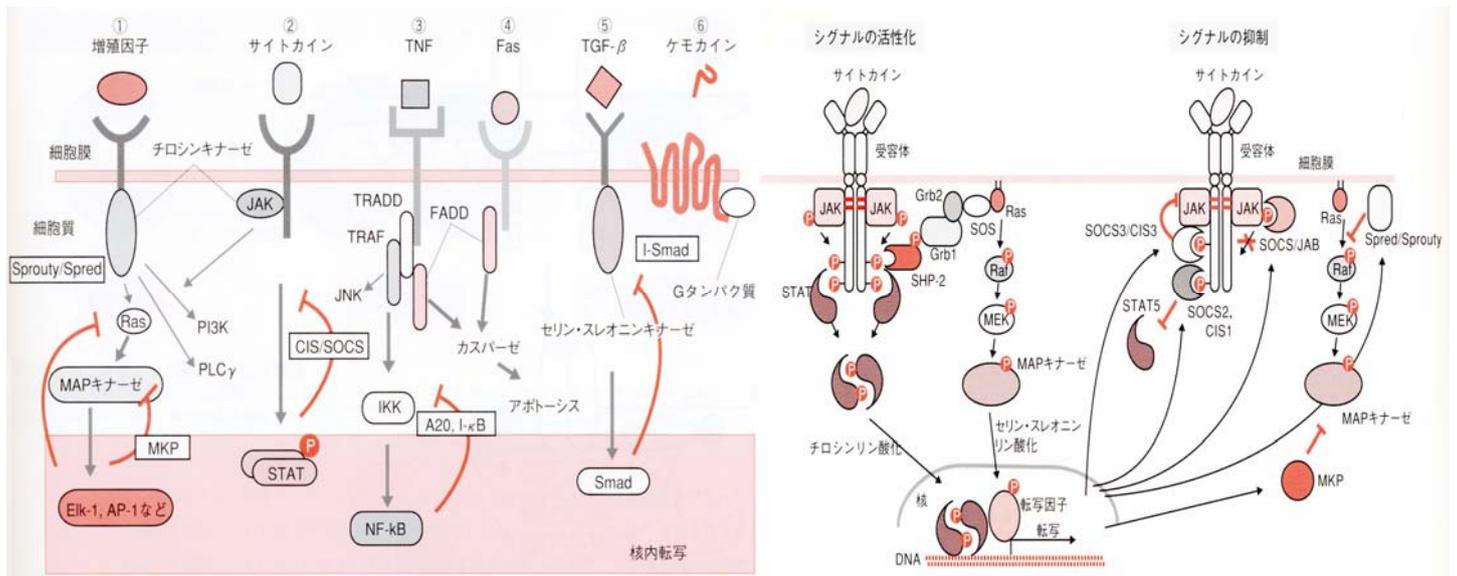


図9 サイトカインシグナル伝達の解析に基づく種々の活性化経路 文献15より引用

シグナル伝達阻害薬によるRA臨床試験

サイトカインのシグナル伝達において種々のキナーゼが関与していることを図9に示した。これらのカスケードは特定のサイトカイン独自のものではなく、サイトカインが相互に利用したり阻害したりしている(16, 17, 18)。JAK3を介してシグナル伝達をおこなうサイトカインとしてはIL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15そしてIL-21等があげられる。2008年のACRにおいて既存の抗リウマチ薬や生物学的製剤に無効のRAに、JAK3阻害化合物CP690550の有効性が示された(図10)(19)。JAK3は他のJAKファミリー(JAK1, JAK2, Tyk2)と異なって、発現が血球系に限局していることが特徴である。上記に示したようなサイトカインはリンパ球系細胞の分化・増殖に必須であるから、他の細胞系・組織系に対する影響が乏しいのかもしれない。

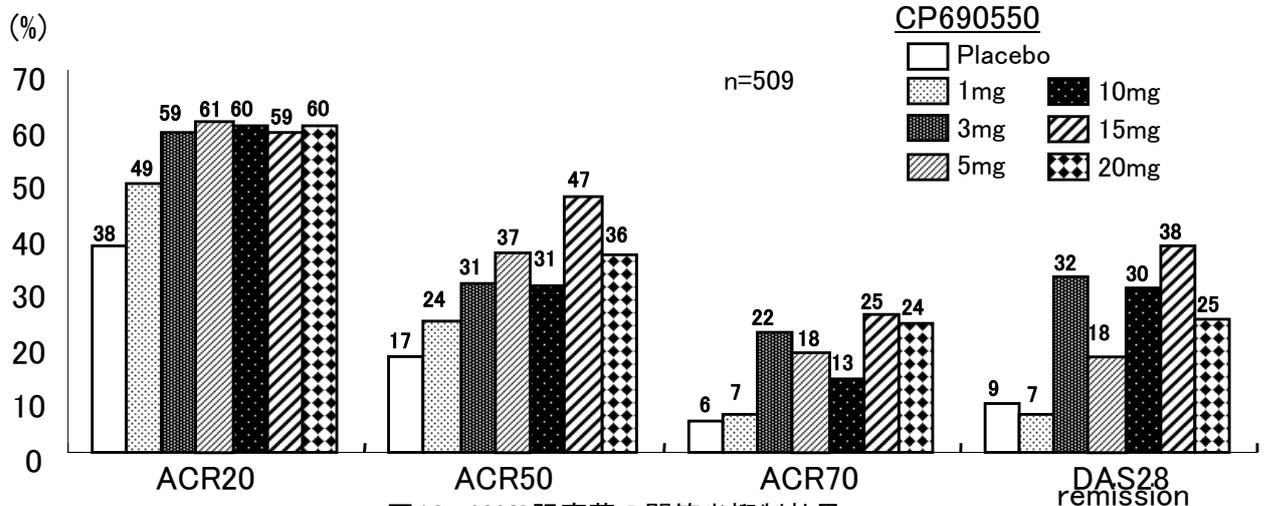


図10 JAK3阻害薬の関節炎抑制効果

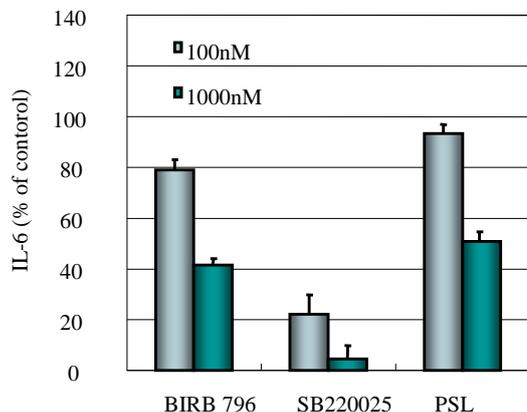


図11 P38 MAPK 阻害によるRA患者IL-6産生抑制

シグナル伝達に関連する細胞内因子を阻害する低分子化合物の開発により、他の自己免疫疾患を含むさまざまな炎症制御に向けた医薬開発がなされている。

生物学的製剤の使用は薬価の問題や利便性においていろいろな問題点に遭遇するのが現在のRA治療であり、これらの化合物製剤が初期治療に使用されることが考えられる。また、臨床試験におけるMTXとの併用効果は生物学的製剤に匹敵することも知られており、早期診断に続く早期の寛解導入療法となる可能性も考えられる。

文献

1. Analysis of cytokine mRNA expression in the central nervous system of mice with... Kennedy et al. *J Immunol.*1992; 149: 2496-2505
2. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of... Mosmann et al. *J Immunol.*1986; 136: 2348-2357
3. Katsikis PD et al. *J. Exp. Med.* 179, 1517-1527, 1994
4. Wendling L et al. A randomized, double blind, placebo controlled multicenter trial of murine anti-CD4 monoclonal antibody therapy in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1998 Aug;25(8):1457-61.
5. Choy EH., Isenberg DA., Garrood T., et al. Therapeutic benefit of blocking interleukin-6 activity with an anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody in rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Arthritis Rheum.*2002; 46:3143-50
6. Weaver CT., Hatton RD., Mangan PR., et al. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol.* 2007; 25:821-52
7. Harrington LE., Hatton RD., Mangan PR., et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol.* 2005; 6:1123-32
8. Park H., Li Z., Tang XO., et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol.*2005; 6:1133-41
9. Korn T., Bettelli E., Gao W., et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells. *Nature.* 2007; 448:484
10. Nakae S., Nambu A., Sudo K., et al. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J. Immunol.* 2003; 171:6173-7
11. Lubberts E., Koenders MI., Oppers-Walgreen B., et al. Treatment with a neutralizing anti-murine interleukin-17 antibody after the onset of collagen-induced arthritis reduces joint inflammation, cartilage destruction, and bone erosion. *Arthritis Rheum.*2004; 50:650-9
12. Sakaguchi N., Takahashi T, Hata H et al. Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice. *Nature* 2003; 426: 454-460
13. Yoshitomi H., Sakaguchi N., Kobayashi K., et al. A role for fungal {beta}-glucans and their receptor Dectin-1 in the induction of autoimmune arthritis in genetically susceptible mice. *J Exp Med.*2005; 201:949-60
14. Erik Lubberts Review Article IL-17/Th17 targeting: On the road to prevent chronic destructive arthritis? *Cytokine* 41 (2008)84-91
15. 宮島篤 わかる実験シリーズ サイトカインがわかるー 2007 第3刷
16. Leonard W.J., O'Shea J.J. Jaks and STATs :biological implications. *Annu. Rev. Immunol.* 16:293-322,1998
17. Yamaoka K., Min B., Zhou YJ., et al. Jak3 negatively regulates dendritic cell cytokine production and survival. *Blood* 2005; 106:3227
18. Pesu M., Laurence A., Kishore N., et al. Therapeutic targeting of Janus kinases. *Immunol Rev.*2008; 223:132
19. Kremer JM, Cohen S., B. Wilkinson et al: The Oral Jak Inhibitor CP-690,550 (CP) in combination with Methotrexate (MTX) is Efficacious, Safe and Well Tolerated in Patients with Active Rheumatoid Arthritis (RA) with an Inadequate Response to Methotrexate Alone. [abstract] *Arthritis Rheum* 2008