

研究課題名：『自己免疫制御の分子基盤』

研究代表者：谷口 克

「NKT細胞機能の分子基盤」

千葉大学大学院医学研究院 谷口 克

第4のリンパ球として同定したNKT細胞は、胸腺形成前の胎生初期から出現し、胸腺外組織で分化する新しい免疫系で、糖脂質を抗原として認識する。しかも、これまで未解決であった免疫現象の根幹に関わる多くが、この新しいNKT細胞免疫系の生理的機能によって担われている。

1. V α 14 抗原受容体遺伝子の発見とNKT細胞分化：

NKT細胞の抗原受容体は、多様性の無いただ一種類の受容体 (V α 14 J α 281) で、T細胞では使われておらず、NKT細胞に特徴的である (Taniguchi *et al*, PNAS 93:11025, 1996; Cui *et al*, Science 278:1623, 1997)。V α 14 遺伝子のクローニングは1986年に成功したが (Imai *et al*, PNAS 83:8708, 1986)、それを指標に調べると、全てのマウスで高頻度にしかも普遍的に存在し、肝・骨髄ではCD3陽性細胞の約50%、脾では5%を占め、NKT細胞の分化の場は、骨髄、肝、消化管などの胸腺外組織である。

2. NKT細胞が新しいリンパ球であることの証明：

(イ) NKTマウスとNKT欠損マウスの作成：遺伝子再構成に必要なRAG遺伝子を相同遺伝子組換え法によって破壊したのち、V α 14抗原受容体遺伝子 (V α 14/V β 8) を導入したマウス (RAG-KO/V α 14tg/V β 8 tg マウス) は、NKT細胞だけが出現し、通常のリンパ球の無いNKTマウスとなった (Taniguchi *et al*, PNAS 1996; Kawano *et al*, Science 278:1626, 1997)。一方、V α 14抗原受容体遺伝子を欠失したマウス (NKT欠損マウス) では、すべての組織からNKT細胞のみが欠失し、他の免疫系は正常であった (Cui *et al*, Science 1997)。

(ロ) 胸腺形成前の胎生初期からの出現：免疫系で最初に出現すると考えられているT細胞は、胸腺を必要とし胎生後期15日～17日目に出現する。しかし、NKT細胞は、胎生9.5日目の大動脈生殖中腎領域から派生する (Makino *et al*, PNAS 93:6516, 1996)。

(ハ) NKT細胞前駆細胞の証明：NKT細胞にのみ分化する前駆細胞の存在を証明した。この細胞は幼若型受容体 (pT α とV β 8) を発現し、細胞内には遺伝子再構成に必要な酵素RAGを持つ。さらにGM-CSF受容体からの刺激でV α 14遺伝子再構成が起こり成熟型NKT細胞に分化した (Sato *et al*, PNAS 96:7439, 1999)。以上の事実からNKT細胞は免疫系の新しいリンパ球系列であると考えられた。

3. V α 14 抗原受容体リガンドの発見：

V α 14受容体はクラスIb分子であるCD1dとともに抗原を認識するが、それが α -ガラクトシルセラミド (α -GalCer) という糖脂質であることを証明した (Kawano *et al*, Science 1997)。CD1dは各動物種に唯一つしか存在せず、糖脂質とCD1dの複合

体が V α 14 抗原受容体によって認識される点で、糖脂質抗原に対する極めてユニークな免疫系と言える。また、 α -GalCer がヒト V α 24NKT 細胞受容体のリガンドとしても機能していることが明らかになった。

4. NKT 細胞の生理機能：

NKT 細胞は、これまで未解決であった様々な免疫現象を説明できる重要な細胞であることが証明できた。たとえば、NKT 細胞は免疫寛容の維持 (Ikehara *et al*, JCI 105:1761, 2000)、がんの免疫学的監視 (Smyth *et al*, JEM 191:661, 2000)、SLE, 強皮症、関節リウマチ、I 型糖尿病などの自己免疫疾患発症制御 (Mieza *et al*, JI 156:4035, 1996; Sumida *et al*, JEM 182:1163, 1995; Sharif *et al*, Nature Med 7: 1057, 2001) などの免疫制御のみならず、エンドトキシシンショック (Dieli *et al.*, JEM 192:1645, 2000), ウイルス肝炎モデルである ConA 誘導肝炎 (Kaneko *et al*, JEM 191:105, 2000), 結核肉芽腫形成 (Apostolou *et al*, PNAS 96:5141, 1999) などの感染症に必須であることが NKT 細胞欠損マウスを用いて証明された。

5. リガンドによる活性化 NKT 細胞の機能：

(イ) がんの臓器転移阻止：リガンドである α -GalCer を極く微量、担がん動物に投与することによって選択的に NKT 細胞のみが活性化され、肝や肺への実験的がん転移が完全に阻止されたが、NKT 欠損マウスではがん転移を阻止できなかったことから、 α -GalCer は生体内で特異的に NKT 細胞を活性化し、がん転移を阻止することが証明された (Kawano *et al*, PNAS 95:5690, 1997; Cancer Res 59:5102, 1999)。また NKT 細胞は IL-12 の標的細胞として働き、抗腫瘍活性を出すことも証明した (Cui *et al*, Science 1997)。さらに α -GalCer をパルスした樹状細胞を担がん動物に投与すると直径 1 ミリ程度の腫瘍塊を消滅させることができ (Toura *et al*, JI 163:2387, 1999)、臨床応用に期待が寄せられている。

(ロ) マラリア感染防御： α -GalCer を微量投与するとほぼ 100 % マラリア感染を防御する事ができた。この場合感染防御できるのは、肝臓寄生型のスポロツォイトだけであり、NKT 細胞から出るインターフェロン・ガンマによってスポロツォイトが傷害されることが原因であることを証明した (Gonzalez-Aseguinolaza *et al*, PNAS 97:8461, 2000)。

(ハ) 流産： α -GalCer を微量、妊娠初期のマウスに投与するとほぼ 100 % 流産を引き起こす事ができた。これは NKT 細胞が産生するパーフォリン、TNF α , INF γ が胎児細胞を攻撃しアポトーシスを誘導するためであることが分かった (Ito *et al*, PNAS 97:740, 2000)。

以上のように、これまでの免疫系とは、分化も、発生も、そして認識する抗原も異なる新しい免疫系を確立することによって、免疫系の生物学的意義、免疫系の成立機構に新しいページを開いた。