

総説

中枢性トレランスと自己免疫疾患

新田 剛, 高浜 洋介

Central tolerance and autoimmune diseases

Takeshi NITTA and Yousuke TAKAHAMA

Division of Experimental Immunology, Institute for Genome Research, University of Tokushima

(Received January 4, 2006)

summary

Central tolerance is established by the repertoire selection of immature T lymphocytes in the thymus, avoiding autoimmune responses to self-antigens. Differential ligand-TCR interactions that result in positive and negative selection initiate differential intracellular signals that, in turn, lead to the survival-or-death decision of immature thymocytes. TCR signal dysregulation due to the mutation of ZAP-70 or defective apoptosis of autoreactive thymocytes due to the deficiency of pro-apoptotic protein Bim impair tolerance and cause autoimmunity. Thymic repertoire selection also induces the development of CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells, which play important roles for maintaining peripheral tolerance. Furthermore, the establishment of central tolerance requires the development of thymic medulla that is mediated by the activation of NF- κ B signaling pathway, promiscuous expression of tissue-specific self-antigens by medullary epithelial cells that is regulated by AIRE, and cortex-to-medulla migration of developing thymocytes that is regulated by CCR7-mediated chemokine signals.

Key words—Central tolerance; Thymus; TCR signal; Repertoire selection; Autoimmune disease

抄録

中枢性トレランスは胸腺における幼若 T 細胞のレパトア選択によって形成され、自己の抗原に反応する免疫応答を防いでいる。幼若 T 細胞は、その TCR の抗原特異性によって成熟（正の選択）か死（負の選択）という全く異なる運命を辿るが、それらの過程は別個の細胞内シグナル伝達経路によって制御されている。特に、TCR 複合体に会合する ZAP-70 の機能異常、あるいは負の選択を制御するアポトーシス誘導因子 Bim の欠損は、自己トレランスの破綻と自己免疫疾患をもたらす。さらに、レパトア選択の過程から分化する CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞は末梢における自己トレランスの維持に重要であり、その分化には転写因子 Foxp3 が必要である。一方、中枢性トレランスの確立には、幼若 T 細胞を取り巻く胸腺微小環境が必要である。胸腺髄質の形成に必要な NF- κ B 活性化経路、髄質上皮細胞での組織特異的抗原の発現を制御する因子 AIRE、幼若 T 細胞の皮質から髄質への移動に関わる CCR7 シグナル等が明らかにされており、これらの分子の機能異常はいずれも自己免疫疾患をもたらす。

はじめに

自己トレランス (self-tolerance ; 自己免疫寛容) は免疫担当細胞が自己に対する反応性を消失させる仕組みであり、免疫系におけるもっとも重要な特徴のひとつである。自己トレランスの形成は幼若リンパ球が発生分化する一次リンパ組織、または成熟リンパ球の機能の場となる二次リンパ組織において行われ、前者を中枢性トレランス、後者を末梢性トレランスと呼ぶ。中枢性トレランスも末梢性トレラン

スも、正常な免疫機能を維持するために重要であり、それらの破綻は免疫系による自己組織の破壊へとつながり、様々な形の自己免疫疾患をもたらす。ここでは以下、中枢性トレランスの成立機構として最も理解が進んでいる、胸腺における $\alpha\beta$ 型 T 細胞のレパトア選択を制御する分子機構について解説する。

胸腺における T 細胞の分化は、骨髄の造血幹細胞に由来する T 前駆細胞が胸腺内に移入することによって開始される。T 前駆細胞は、もっとも未熟な段階である CD4⁻CD8⁻ (double negative : DN) 細胞から、胸腺細胞の大部分を占める CD4⁺CD8⁺

(double positive : DP) 細胞に分化する。DP 細胞は T 細胞受容体 (T cell receptor : TCR) 遺伝子再構成によってそれぞれの細胞クローンごとに抗原特異性の異なる TCR を細胞表面に発現しており、その抗原特異性に従って、胸腺内に発現された主要組織適合抗原 (major histocompatibility complex : MHC)/ペプチド複合体との相互作用を介して細胞生死の選択を受ける (図 1)。すなわち、自己の MHC と適度に反応しうる TCR を発現する T 細胞は、CD4 single positive (SP) T 細胞もしくは CD8 SP T 細胞へと成熟し (正の選択)、一方、MHC に提示された自己抗原を強く認識する TCR を発現する DP 細胞はアポトーシスによって死滅する (負の選択)。自己の MHC を全く認識できない DP 細胞は、やはりアポトーシスによって除かれる (無の選択または death by neglect)。このような選択によって、外来抗原を効率良く認識できる T 細胞のみが末梢のレパトアを形成し、自己反応性 T 細胞のほとんどは未熟な段階で排除され末梢には現れない¹⁻³⁾。ただ、この機構は必ずしも完全ではなく、末梢に出現した自己反応性 T 細胞のはたらきを抑える仕組みが存在し、その代表例が CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞である⁴⁾。CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞もやはり胸腺由来であり、DP 細胞の選択の過程を通して産生されることがわかっている。すなわち、DP 胸腺細胞の TCR シグナルによる運命決定は、

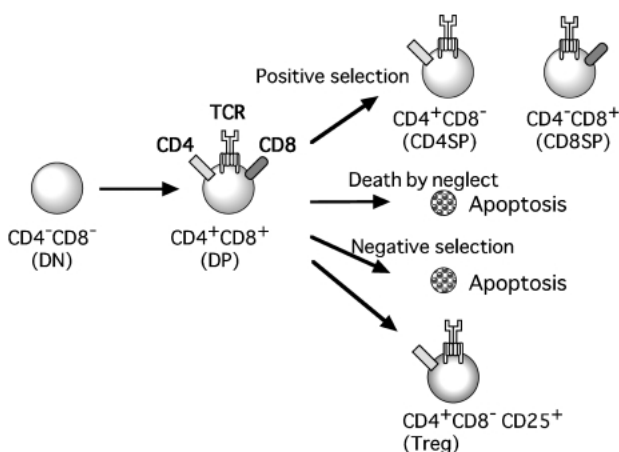


図1 胸腺 T 細胞の運命分岐

DP 胸腺細胞は、細胞表面に発現する TCR と胸腺上皮細胞上の MHC/抗原複合体との反応性に依じて選択を受ける。MHC/抗原複合体を適度に認識できる T 細胞クローンのみが、CD4SP または CD8SP 細胞へと分化する。MHC/抗原複合体を強く認識する T 細胞クローンや自己 MHC を全く認識できないものはアポトーシスによって排除される。さらに MHC/抗原複合体を強く認識する T 細胞クローンの中から CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞が分化すると考えられているが、具体的な分子機構はほとんどわかっていない。

正負の選択による中枢性トレランスの成立だけでなく、CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞の産生を介して末梢性トレランスをも制御する、免疫系にとってきわめて重要な細胞応答といえる。

近年、胸腺での T 細胞の選択を制御する分子機構が少しずつ明らかになるとともに、中枢性トレランスが自己免疫を回避するために重要な役割を果たすことが分子レベルで説明されるようになってきた。とりわけ近年、従来さかんに行われてきた T 細胞のシグナル伝達因子やアポトーシス制御因子についての研究に加え、胸腺髄質の上皮細胞や樹状細胞等からなる胸腺内微小環境が自己免疫の抑制に重要であることを示す多くの実験データが報告されており、中枢性トレランスを成立させる「場」としての胸腺器官の重要性が多くの研究者の関心を集めつつある。本稿では、中枢性トレランスの成立に重要な役割を果たす T 細胞内の TCR シグナル伝達機構やアポトーシス制御因子、さらには胸腺髄質上皮細胞における自己抗原の発現や胸腺内の細胞移動を制御する因子について、自己免疫疾患との関わりに触れながら最新の知見を紹介する。

正負の選択を制御する T 細胞シグナル伝達機構

T 細胞の正負の選択、すなわち T 細胞の生または死の運命決定は、TCR という一種の細胞表面受容体を起点として開始される。現在までのところ、正負の選択を決定づけるのは、TCR とリガンドとの間の結合力の総和 (アビディティ) と、それによって引き起こされる TCR の細胞膜上での凝集の程度であると理解されている^{1,2)}。すなわち、TCR の弱い凝集は正の選択を誘導し、強い TCR 凝集は負の選択を誘導する。この仕組みは、単一の受容体を介した量的に異なるシグナルが細胞内で質的に異なるシグナルに変換され、最終的には細胞の生または死という全く異なる結果をもたらすという、きわめて巧妙で複雑な分子機構によって成り立っている。

1. 正の選択を制御する細胞内シグナル伝達経路

正負の選択をもたらす TCR シグナルの差異は、TCR 複合体中に存在する ITAM モチーフのリン酸化および TCR 複合体に会合したアダプター分子 LAT のリン酸化の程度として表れる。正の選択を誘導する弱い TCR シグナルは LAT 分子の部分的なリン酸化をもたらす。Gads, Slp76, Itk といった

アダプター分子群の会合を介して PLC γ 1 の活性化を誘導する (図 2)。活性化された PLC γ 1 はイノシトール 1,4,5-三リン酸 (IP3) およびジアシルグリセロールを産生し、それぞれカルシウムシグナルの活性化と RasGRP を介した MAP キナーゼ経路の活性化を誘導する。これまでに行われた多くの研究は一貫して、この 2 つのシグナル伝達経路が正の選択に必須であることを示している⁵⁻⁷。興味深いことに、これらのカルシウムシグナルおよび MAP キナーゼ経路に関与する分子群のノックアウト (KO) マウスでは、正の選択が抑制されるものの、負の選択への影響はほとんど観察されていない。このことは、正負の選択が異なるシグナル伝達分子群によって制御されていることを示唆している。

2. 負の選択を制御する細胞内シグナル伝達経路

正の選択を誘導する弱い TCR シグナルと異なり、負の選択を誘導する強い TCR シグナルは LAT 分子の完全なリン酸化を誘導し、その結果、正の選

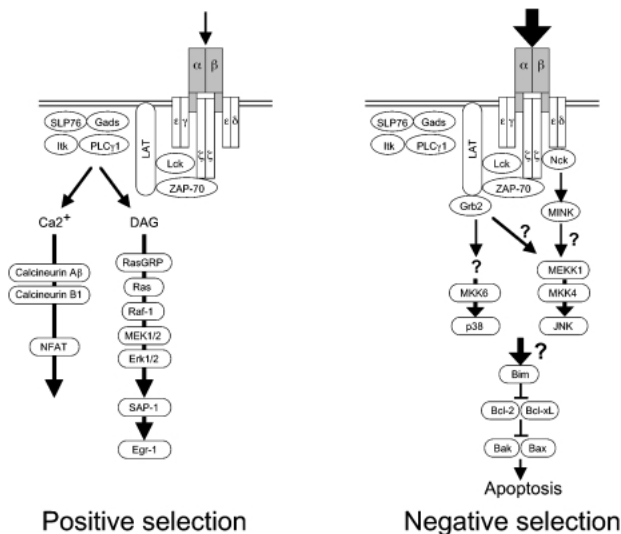


図 2 正負の選択を制御する T 細胞シグナル伝達経路
(左) 低いアビジティのリガンド刺激は、まず TCR 複合体中の ITAM モチーフをリン酸化し、アダプター分子 LAT の部分的なリン酸化を誘導する。これに続いて、カルシウムイオン (Ca^{2+}) を介したシグナルと MAP キナーゼ Erk 経路の活性化が起こり、下流の転写因子のはたらきによって正の選択が誘導される。
(右) 強いアビジティの TCR シグナルは LAT の完全なリン酸化を引き起こし、Grb2 を介して p38 および JNK 経路を活性化し、負の選択を誘導する。一方、Nck は TCR シグナルに応答して CD3 ϵ に直接結合し、MINK を介して JNK 経路を活性化すると考えられている。負の選択すなわち胸腺細胞のアポトーシスの最終段階は、Bak と Bax によって実行される。通常、Bak/Bax の作用は Bcl-2 や Bcl-xL によって抑制されているが、アポトーシス誘導シグナルによって Bim が活性化され Bcl-2/Bcl-xL を抑制することによって、Bak/Bax によるアポトーシスが実行されると考えられている。

択の場合とは異なるシグナル伝達分子が TCR 複合体近傍にリクルートされる (図 2)。アダプター分子 Grb2 は LAT のリン酸化に反応して MAP キナーゼ分子である p38 と JNK の活性化を誘導すると考えられている⁸。p38 と JNK はこれまで様々な解析系を用いて負の選択への関与が示唆されてきた MAP キナーゼである。また、TCR 複合体に直接結合するアダプター分子である Nck は、下流のキナーゼ MINK を介して JNK を活性化し、負の選択を誘導すると考えられている^{9,10}。Grb2 や MINK の発現が低下したマウスでは負の選択が著しく阻害されるが、正の選択はまったく正常であり、この点は前項で述べたカルシウムシグナルや MAP キナーゼ Erk の場合と対照的である。

3. TCR 近傍の分子による正負選択と中枢性トレランスの制御

上記のように、T 細胞の正負選択は、質的に異なる別個のシグナル伝達経路によって実行されている。量的に異なる TCR 刺激はどのようにして質的に異なるシグナル伝達経路に振り分けられるのか？ おそらくは TCR 複合体近傍の分子のはたらきによってシグナルの閾値が設定されていると考えられているが、その分子機序は未だ完全には理解されていない。

TCR 複合体近傍のアダプター分子と TCR シグナル閾値および中枢性トレランスの関係について、坂口らが非常に重要な報告をしている¹¹。彼等は関節リウマチを自然発症する SKG マウスを用いてその疾患責任遺伝子の同定を行い、ZAP-70 の点突然変異を見出した。興味深いことに、この変異体 ZAP-70 は TCR シグナルの閾値を変化させるらしく、HY-TCR トランスジェニック (Tg) マウス系では本来正の選択を受けるべき細胞が成熟できず、本来負の選択を受けるべき細胞が正の選択を受けて成熟するといった表現型が観察される。この正負選択の制御異常により自己トレランスが破綻し、末梢に出現した自己反応性の T 細胞によって関節リウマチが引き起こされると考えられている。さらに彼等はヒトの関節リウマチ患者の 2.5% から TCR ζ 鎖の点変異を発見し、これが SKG マウスで見られたのと同様に T 細胞選択の異常を引き起こす可能性を考察している。詳細な分子機構については未だ不明な点が多く残されているが、TCR シグナルの起点に関わる 1 分子の変異によって正負選択の制御が失わ

れ、自己トレランスが破綻する可能性を示したことは非常に有意義で興味深い。

4. アポトーシス制御因子による負の選択と中枢性トレランスの制御

胸腺における負の選択の実行段階、すなわち自己反応性 T 細胞のアポトーシスを制御する分子機構については、アポトーシス研究の発展とともに多くの研究グループによって解析が行われてきた。これまでのところ、いわゆる death receptor に分類される Fas, TNF-R, およびその下流で活性化されるプロテアーゼである caspase 群については、負の選択への関与は否定的である^{2,3)}。Death receptor のひとつである TRAIL については、この分子の KO マウスが自己免疫疾患発症に感受性であることや胸腺での負の選択が障害されていることが報告されている¹²⁾。しかしながら、別の研究グループが同質の TRAIL KO マウスを用いて負の選択にまったく異常がないことを報告しており¹³⁾、TRAIL の負の選択および自己トレランスにおける役割については、未だ結論が得られていない。

負の選択における役割が明確に示されているアポトーシス制御因子としては、Bcl-2 ファミリー分子があげられる。Bcl-2 ファミリー分子は、その機能と一次構造によって、アポトーシス抑制作用を示す Bcl-2 サブファミリー (Bcl-2, Bcl-xL 等)、アポトーシス誘導作用を示す Bax サブファミリー (Bak, Bax 等) および BH3-only サブファミリー (Bim 等) の 3 種類に大別される。これらの分子群はミトコンドリアにおいて相互作用し、アポトーシスの誘導と抑制を制御していると考えられている¹⁴⁾。

胸腺細胞のアポトーシス制御における Bcl-2 ファミリー分子の役割を明確に示したのは、アポトーシス誘導性の Bax サブファミリーに属する Bak と Bax についての報告である¹⁵⁾。Bak と Bax はそれぞれ単独の KO では大きな表現型を示さないが、両遺伝子を欠損させたダブル KO マウスおよびそれらのマウス由来の骨髄キメラマウスでは、胸腺での負の選択が抑制されるだけでなく、death by neglect およびステロイド刺激による胸腺細胞のアポトーシスが完全に阻害された。ただし、Bak/Bax ダブル KO マウスは様々な発生上の異常を示すため、これらの分子の欠損が生体における自己トレランスの異常に繋がるかどうかは確かめられていない。

胸腺での負の選択および自己トレランスの確立に

関しては、BH3-only サブファミリーに属するアポトーシス誘導分子 Bim の役割が複数のグループから報告されている。Bouillet らは Bim KO マウスを用いて、TCR 刺激による DP 胸腺細胞のアポトーシス、スーパー抗原や抗原ペプチドによる TCR V β 特異的な胸腺 T 細胞の除去、負の選択を誘導する HY-TCR Tg マウスといった計 6 種類のモデル系を用いて、Bim が負の選択に必須であることを明確に示した¹⁶⁾。また Liston らは、I 型糖尿病のモデル動物である NOD マウスにおいて、胸腺における自己反応性 T 細胞の排除が低下していることと、強い抗原刺激による Bim の発現誘導が減弱していることを見出した¹⁷⁾。このとき正の選択に関わるカルシウムシグナルや MAP キナーゼ経路の標的遺伝子の発現は正常であったことから、彼等は Bim の発現異常こそが NOD マウスでみられる自己トレランス破綻と糖尿病発症の原因であろうと結論づけている。実際、Bim KO マウスは老齢になると抗 DNA 抗体の産生や腎炎等のヒトの全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus ; SLE) によく似た自己免疫症状を呈する¹⁸⁾。ただし、Bim は胸腺における負の選択だけでなく、末梢 T 細胞の活性化起因性細胞死 (activation-induced cell death) にも必要であることが報告されており¹⁹⁾、Bim KO マウスで見られる自己免疫症状が中枢性トレランスの破綻のみに起因するかどうかは定かではない。Bim の機能異常や発現異常が SLE や I 型糖尿病等のヒトの自己免疫疾患の原因となりうるかどうかは今後の課題である。また、前項まで述べた TCR シグナル伝達経路が、どのように Bcl-2 ファミリー分子の機能を制御しているのかはほとんどわかっておらず、未知の機能分子の存在も示唆される。今後の研究の進展に期待したい。

5. CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞

CD25⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞 (以下、制御性 T 細胞) は末梢 CD4⁺ T 細胞の 5-10% を占め、自己反応性 T 細胞のはたらきを抑制することで末梢性トレランスの維持に重要な役割を果たしている。制御性 T 細胞は DP 胸腺細胞の選択の過程から分化し、それには転写因子 Foxp3 が重要な役割を果たしている⁴⁾。遺伝子変異によって Foxp3 を欠失した Scurfy マウスおよび Foxp3 KO マウスでは、制御性 T 細胞が分化できず、さまざまな臓器における自己免疫症状を示す^{20,21)}。ヒトにおいても Foxp3

の変異は、制御性 T 細胞の欠損をもたらし、糖尿病や腸炎などの多種の自己免疫疾患を合併した Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) の原因となることから、Foxp3 は制御性 T 細胞の分化を制御するマスター遺伝子と考えられている。

胸腺での制御性 T 細胞の分化には、TCR シグナルとともに CD28 を介した副シグナルが必要である。これまでのところ、DP 胸腺細胞における CD28 シグナルを伴う強い TCR シグナルが、Foxp3 の発現誘導および制御性 T 細胞の分化を制御していると考えられている²²⁾。しかしながら、負の選択と制御性 T 細胞の分化という、相反する運命分岐がどのようになされているのか、その分子機構は未だ明らかになっていない。

中枢性トレランス確立における胸腺微小環境の役割

近年、生体における免疫反応にはその反応に必要な「場」の存在が重要であるとの認識が共有され、胸腺における選択や自己トレランス形成の研究においても、胸腺器官内の「場」すなわちストローマ細胞群のネットワークによって形成される胸腺微小環境の重要性が広く認識されるようになってきた²³⁾。胸腺ストローマは、皮質上皮細胞および髄質上皮細胞、樹状細胞、マクロファージによって形成される。最近、これらの細胞群による胸腺細胞の選択の制御と自己トレランス確立における役割について、分子レベルの理解が飛躍的に進みつつある。以下、髄質の形成、組織特異的抗原の提示、正の選択に伴う未熟 T 細胞の移動、樹状細胞の役割についての最近の知見を紹介する (図 3)。

1. 胸腺髄質の形成を制御するシグナル伝達経路

胸腺の皮質と髄質を形成する上皮細胞は機能的に異なっている。皮質上皮細胞は普遍的に発現する自己抗原を MHC 分子上に提示し、提示された抗原/MHC 複合体と適度に反応する TCR を発現する DP 胸腺細胞に正の選択を誘導する。抗原/MHC 複合体を強く認識する TCR を発現する DP 胸腺細胞は負の選択によって排除され、これによって普遍的な自己抗原に対するトレランスは確立されると考えられる。一方、正の選択を受けた成熟途上の T 細胞は髄質へと移動し、そこでさらなる選択を受けることとなる。髄質上皮細胞には本来胸腺以外の末梢組織にのみ見られるタンパク質 (例えば膵臓で産生

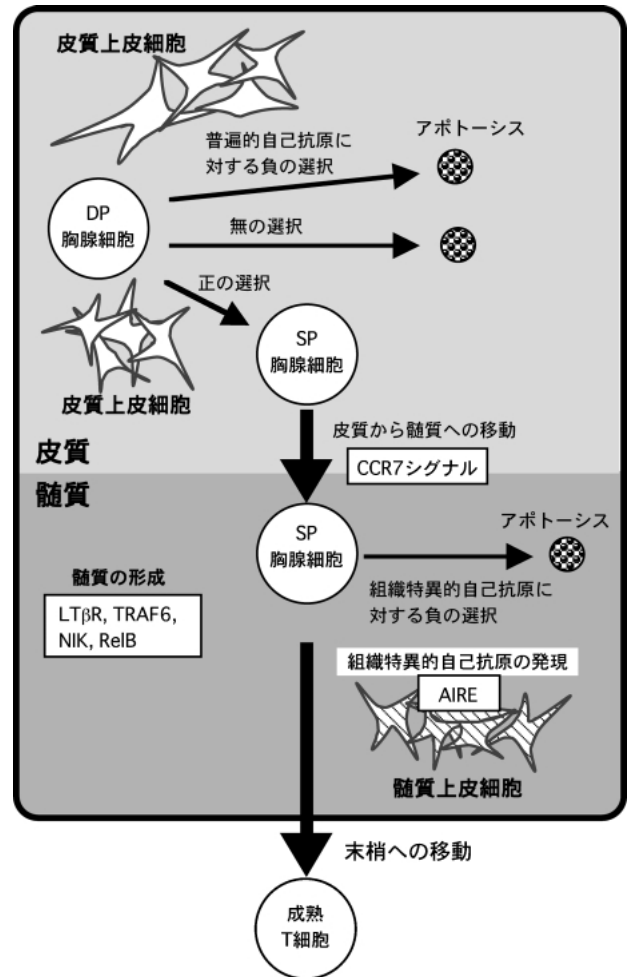


図 3 中枢性トレランス確立に関わる胸腺内の細胞動態 DP 胸腺細胞は皮質において選択を受け、普遍的自己抗原に反応するクローンはこの時点で排除される。正の選択を受けた細胞は CCR7 シグナルによって皮質から髄質へと移動する。髄質上皮細胞に発現された組織特異的自己抗原に反応するクローンはここで排除される。これら以外に、髄質上皮細胞から組織特異的抗原を獲得した樹状細胞が皮質に移動し、皮質にて負の選択を誘導する可能性も考えられている。

されるインスリン等) が抗原として低レベルで発現されている。これらの組織特異的抗原もやはり MHC 分子によって細胞表面に提示され、これに強く反応する TCR をもつ T 細胞は負の選択によって排除される。すなわち自己トレランスの確立には、胸腺皮質における普遍的自己抗原に対する負の選択と、髄質における組織特異的自己抗原に対する負の選択の 2 段階の機構が必要であると考えられている。

胸腺髄質の形成には、転写因子 NF- κ B の活性化につながるシグナル伝達経路が重要であることが知られている。NF- κ B の活性化経路には、TNF 等の刺激に応答して I κ B のリン酸化と分解を介して NF- κ B1 (p50)-RelA の核移行を制御する経路 (canonical pathway) と、前駆体タンパク質 p100 のプロセッシングを介して NF- κ B2 (p52)-RelB を活

性化する経路 (non-canonical pathway) の 2 種類が存在する。後者の経路で活性化される RelB の KO マウスでは、胸腺髄質の形成がみられず、正の選択による T 細胞の産生は正常であるものの、末梢 T 細胞の自己反応性応答が亢進している²⁴⁾。一方、RelB の活性化に関わる細胞表面受容体 LT- β R, アダプター分子 TRAF6, その下流のキナーゼ NIK についても、KO マウスまたは機能欠失変異マウスがいずれも胸腺髄質の形成阻害を示し、末梢組織へのリンパ球の浸潤や自己抗体の産生といった自己免疫症状を呈することが報告されている^{25~27)}。以上のことから、NF- κ B 活性化の non-canonical pathway が、胸腺髄質の形成および自己トレランスの確立に必要であると考えられている。

2. AIRE 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

胸腺の髄質上皮細胞には本来胸腺以外の末梢組織にのみ見られるタンパク質が抗原として低レベルで発現されている。最近、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 AIRE (autoimmune regulator) と呼ばれる分子が同定され、注目を集めている。

AIRE はヒトの遺伝性自己免疫疾患の 1 つである自己免疫性多腺性内分泌不全症 I 型 (Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy: APECED) の原因遺伝子として同定された^{28,29)}。AIRE は Zn フィンガー (PHD フィンガー) ドメインを有する転写因子とみられる構造のタンパク質をコードし、胸腺の髄質上皮細胞に特異的に発現している。AIRE KO マウスでは自己抗体の産生や腺組織へのリンパ球の浸潤といった APECED に似た自己免疫症状が観察される^{30~32)}。骨髄キメラマウスを用いた解析の結果、AIRE KO マウスの自己免疫症状の原因は胸腺細胞ではなく胸腺環境側にあることが明らかになった。また、AIRE KO では胸腺における組織特異的自己抗原の発現が顕著に減少している。これらの結果から、AIRE は胸腺髄質における組織特異的自己抗原の発現を制御し、それらの自己抗原に反応する T 細胞に負の選択をもたらすことで自己トレランスの確立に寄与することが示唆される。AIRE の分子機能については未だ不明な点が多い。松本らのグループは、AIRE が E3 ユビキチンリガーゼ活性をもち、APECED 患者由来の変異体 AIRE ではその活性が低下していることを示したほ

か³³⁾、AIRE KO マウスにおいて胸腺髄質での mRNA 量が減少していない自己抗原に対しても抗体産生等の自己免疫応答が誘導されていることを報告し³⁴⁾、AIRE が自己抗原の転写制御以外の機能によって自己トレランス確立にはたらいている可能性を示唆している。

3. 胸腺細胞の皮質から髄質への移動は中枢性トレランスの確立に必要である

正の選択によって DP 胸腺細胞から分化した CD4SP T 細胞または CD8SP T 細胞は、その成熟に伴って胸腺皮質から髄質へと移動する。我々のグループはこれまで、胸腺内の細胞移動に関わるケモカインシグナルに着目して研究を行い、CCR7 リガンド (CCR7L)-CCR7 を介したシグナルが胸腺細胞の正の選択に伴う皮質から髄質への移動に必須であることを明らかにしてきた³⁵⁾。CCR7L である CCL19 と CCL21 は髄質上皮細胞に発現しており、対する CCR7 は正の選択を受けた胸腺細胞上に発現が誘導される。CCR7L または CCR7 を欠損したマウスでは正の選択による T 細胞の成熟過程には問題はなく、成熟 T 細胞が髄質へ移動できずに皮質に蓄積し、皮質から直接末梢に移出される。これらのマウスでは普遍的自己抗原に対する負の選択はまったく正常である。ところが、これらの CCR7 シグナル欠損マウスは、涙腺や唾液腺といった外分泌腺組織へのリンパ球の浸潤や自己抗体の産生によって特徴づけられるヒトのシェーグレン症候群に似た自己免疫症状を呈する³⁶⁾。従って、CCR7 シグナルによって制御される胸腺 T 細胞の皮質から髄質への移動は、中枢性トレランスの確立に必須であると考えられる。現在我々は、CCR7 シグナル欠損マウスでの自己トレランス破綻のメカニズムについて、制御性 T 細胞の産生および組織特異的自己抗原に対する負の選択の 2 つの観点から解析を進めている。

4. 負の選択における樹状細胞の役割

組織特異的自己抗原に対する負の選択は、胸腺髄質だけでなく皮質でも起こりうるという報告が Gallegos らによってなされている³⁷⁾。彼等は胸腺髄質に発現される組織特異的自己抗原に対する TCR Tg マウスの系を用いて、髄質上皮細胞に MHC 分子が存在しなくても組織特異的自己抗原に対する負の選択が誘導されうることを示した。このとき、骨髄由来

の細胞で MHC 分子を欠損させると負の選択は誘導されなかった。これらの結果は、髄質上皮細胞だけでなく骨髄由来の抗原提示細胞—おそらくは樹状細胞—にも組織特異的抗原に対する負の選択を誘導する能力があることを示している。樹状細胞は何らかの方法で髄質上皮細胞に発現された組織特異的抗原を獲得し、自身の MHC 分子を用いて胸腺細胞に提示していると考えられる。さらに樹状細胞は髄質と皮質の間を移動でき、皮質においても組織特異的抗原に対する負の選択を誘導していると考えられる。樹状細胞の胸腺内での移動に関わる分子機構や中枢性トレランス確立における役割について詳細はわかっていない。前述の胸腺内の細胞移動と自己トレランスの関係を考えるうえでも、樹状細胞の役割は非常に重要であり、我々の研究グループでも更に解析を進めている。

おわりに

中枢性トレランスは、胸腺における幼若 T 細胞と胸腺内微小環境との相互作用をもとに、正の選択による T 細胞の成熟、普遍的または組織特異的自己抗原に対する自己反応性 T 細胞の排除、それらに伴う細胞の移動や樹状細胞の介在、制御性 T 細胞の分化、といったきわめて複雑で動的なメカニズムによって形成されている。特に本稿の後半でとりあげた、髄質上皮細胞における自己抗原提示や胸腺内細胞動態といった中枢性トレランス確立の「場」についての研究は、今後この分野を牽引する重要なテーマとなると考えられる。中枢性トレランスの分子機構の研究が、自己免疫疾患の治療をはじめとする臨床課題の克服に貢献することを期待する。

文 献

- 1) von Boehmer H, Aifantis I, Gounari F, et al. : Thymic selection revisited : how essential is it? *Immunol Rev* **191** : 62–78, 2003.
- 2) Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA. : Positive and negative selection of T cells. *Annu Rev Immunol* **21** : 139–176, 2003.
- 3) Palmer E. : Negative selection—clearing out the bad apples from the T-cell repertoire. *Nat Rev Immunol* **3** : 383–391, 2003.
- 4) Sakaguchi S. : Naturally arising Foxp3-expressing CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* **6** : 345–352, 2005.
- 5) Neilson JR, Winslow MM, Hur EM, Crabtree GR. : Calcineurin B1 is essential for positive but not negative selection during thymocyte development. *Immunity* **20** : 255–266, 2004.
- 6) Fischer AM, Katayama CD, Pages G, et al. : The role of Erk1 and Erk2 in multiple stages of T cell development. *Immunity* **23** : 431–443, 2005.
- 7) Costello PS, Nicolas RH, Watanabe Y, et al. : Ternary complex factor SAP-1 is required for Erk-mediated thymocyte positive selection. *Nat Immunol* **5** : 289–298, 2004.
- 8) Gong Q, Cheng AM, Akk AM, Alberola-Ila J, et al. : Disruption of T cell signaling networks and development by Grb2 haploid insufficiency. *Nat Immunol* **2** : 29–36, 2001.
- 9) Gil D, Schamel WWA, Montoya M, et al. : Recruitment of Nck by CD3ε reveals a ligand-induced conformational change essential for T cell receptor signaling and synapse formation. *Cell* **109** : 901–912, 2002.
- 10) McCarty N, Paust S, Ikizawa K, et al. : Signaling by the kinase MINK is essential in the negative selection of autoreactive thymocytes. *Nat Immunol* **6** : 65–72, 2005.
- 11) 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* **426** : 454–460, 2003.
- 12) Lamhamedi-Cherradi S-E, Zheng S-J, Maguschak KA, et al. : Defective thymocyte apoptosis and accelerated autoimmune diseases in TRAIL^{-/-} mice. *Nat Immunol* **4** : 255–260, 2003.
- 13) Cretney E, Uldrich AP, Berzins SP, et al. : Normal thymocyte negative selection in TRAIL-deficient mice. *J Exp Med* **198** : 491–496, 2003.
- 14) Droin NM, Green DR. : Role of Bcl-2 family members in immunity and disease. *Biochim Biophys Acta* **1644** : 179–188, 2004.
- 15) Rathmell JC, Lindsten T, Zong WX, et al. : Deficiency in Bak and Bax perturbs thymic selection and lymphoid homeostasis. *Nat Immunol* **3** : 932–939, 2002.
- 16) Bouillet P, Purton JF, Godfrey DI, et al. : BH3-only Bcl-2 family member Bim is required for apoptosis of autoreactive thymocytes. *Nature* **415** : 922–926, 2002.
- 17) Liston A, Lesage S, Gray DH, et al. Generalized resistance to thymic deletion in the NOD mouse ; a polygenic trait characterized by

- defective induction of Bim. *Immunity* **21** : 817–830, 2004.
- 18) Bouillet P, Metcalf D, Huang DCS, et al. : Proapoptotic Bcl-2 relative Bim required for certain apoptotic responses, leukocyte homeostasis, and to preclude autoimmunity. *Science* **286** : 35–38, 1999.
- 19) Hildeman DA, Zhu Y, Mitchell TC, et al. : Activated T cell death *in vivo* mediated by proapoptotic Bcl-2 family member Bim. *Immunity* **16** : 759–767, 2002.
- 20) Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. : Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Nat Immunol* **4** : 330–336, 2003.
- 21) Khattry R, Cox T, Yasayko S-A, Ramsdell F. : An essential role for Scurfin in CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells. *Nat Immunol* **4** : 337–342, 2003.
- 22) Tai X, Cowan M, Feifenbaum L, Singer A. : CD28 costimulation of developing thymocytes induces Foxp3 expression and regulatory T cell differentiation independently of interleukin 2. *Nat Immunol*. **6** : 152–162, 2005.
- 23) Takahama Y. : Journey through the thymus : stromal guides for T-cell development and selection. *Nat Rev Immunol*, in press.
- 24) DeKoning J, DiMolfetto L, Reilly C, et al. : Thymic cortical epithelium is sufficient for the development of mature T cells in relB-deficient mice. *J Immunol* **158** : 2558–2566, 1997.
- 25) Boehm T, Scheu S, Pfeffer K, Bleul CC. : Thymic medullary epithelial cell differentiation, thymocyte emigration, and the control of autoimmunity require lympho-epithelial cross talk via LT β R. *J Exp Med* **198** : 757–769, 2003.
- 26) Akiyama T, Maeda S, Yamane S, et al. : Dependence of self-tolerance on TRAF6-directed development of thymic stroma. *Science* **308** : 248–251, 2005.
- 27) Kajiura F, Sun S, Nomura T, et al. : NF- κ B-inducing kinase establishes self-tolerance in a thymic stroma-dependent manner. *J Immunol*. **172** : 2067–2075, 2004.
- 28) Nagamine K, Peterson P, Scott HS, et al. : Positional cloning of the APECED gene. *Nat. Genet.* **17** : 393–398, 1997.
- 29) Aaltonen J, Björse P, Perheentupa J, et al. : An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nature Genetics* **17** : 399–403, 1997.
- 30) Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, et al. : Projection of an immunological self-shadow within the thymus by the aire protein. *Science* **298** : 1395–1401, 2002.
- 31) Ramsey C, Winqvist O, Puhakka L, et al. : Aire deficient mice develop multiple features of APECED phenotype and show altered immune response. *Hum. Mol. Gen.* **11** : 397–409, 2002.
- 32) Zuklys S, Balciunaite G, Agarwal A, et al. : Normal thymic architecture and negative selection are associated with *aire* expression, the gene defective in the autoimmune-polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). *J. Immunol.* **165** : 1976–1983, 2000.
- 33) Uchida D, Hatakeyama S, Matsushima A, et al. : AIRE functions as an E3 ubiquitin ligase. *J Exp Med* **199** : 167–172, 2004.
- 34) Kuroda N, Mitani T, Takeda N, et al. : Development of autoimmunity against transcriptionally unrepressed target antigen in the thymus of Aire-deficient mice. *J Immunol* **174** : 1862–1870, 2005.
- 35) Ueno T, Saito F, Gray DH, et al. : CCR7 signals are essential for cortex-medulla migration of developing thymocytes. *J Exp Med* **16** : 493–505, 2004.
- 36) Kurobe H, Liu C, Ueno T, et al. : CCR7-dependent cortex-to-medulla migration of positively selected thymocytes is dispensable for T-cell maturation and thymic export but is essential for establishing central tolerance. *Immunity*, in press.
- 37) Gallegos AM, Bevan MJ. Central tolerance to tissue-specific antigens mediated by direct and indirect antigen presentation. *J Exp Med* **200** : 1039–1049, 2004.