

<シンポジウム 06—2>脳血管障害治療の次のブレークスルーを目指して

脳虚血における T 細胞の役割

七田 崇¹⁾²⁾ 此枝 史恵¹⁾³⁾ 吉村 昭彦¹⁾

(臨床神経 2010;50:878-880)

Key words : 脳虚血, T細胞, IL-23, IL-17, $\gamma\delta$ T細胞

はじめに

脳虚血の病態において、組織傷害と炎症が進行する機序は複雑であり、種々の炎症性因子が関与する¹⁾。マクロファージや好中球の組織浸潤は脳虚血の病態の進行に重要な働きを持つことが知られているが、われわれは炎症性 T 細胞が遅れて浸潤することによって二次的な炎症を惹きおこし、組織傷害を促進、神経症状を悪化させることを明らかにした。

虚血によって壊死に陥った脳組織内には炎症細胞が浸潤し、様々な炎症性サイトカインが産生されて脳組織の炎症はさらに進行する。炎症によって脳浮腫がおこると周囲の正常組織を圧迫し、神経症状を悪化させる。梗塞辺縁部ではアポトーシスによる神経細胞死(遅延性神経細胞死)がおこり、梗塞巣の拡大につながる。このように脳虚血による炎症は、炎症細胞浸潤や炎症性サイトカインの発現などにより数日間かけて進行する。

T 細胞はマクロファージの浸潤が遅れて、虚血発症 24 時間後より脳内(梗塞辺縁部)に浸潤することが知られている²⁾。したがって、T 細胞は虚血発症 24 時間後(脳虚血遅延期)の炎症や組織傷害に関与している可能性が高いと考えられる。脳梗塞に対する神経保護療法は発症 24 時間以内の急性期にかぎられたものが多いため、脳虚血における T 細胞の機能解明により脳梗塞亜急性期における新たな治療法を開発できる可能性がある。

脳虚血における T 細胞の役割

成熟リンパ球を欠損するマウス(RAG KO マウスや SCID マウス)をもちいた実験的脳虚血モデルの解析では、B 細胞ではなく T 細胞が脳虚血の病態の悪化に関係していることが明らかとなっている³⁾。そこでわれわれは脳虚血における T 細胞浸潤の意義を検討するため、新たな免疫抑制剤である FTY720(Fingolimod)に着目した。FTY720 は T 細胞がリンパ節や脾臓から遊出して炎症部位へ移動する過程を阻害する免疫抑制剤で、多発性硬化症の治療薬となる可能性が注目さ

れている。そこで、一過性脳虚血モデルをもちいて FTY720 の静脈内投与による効果を検討したところ、FTY720 投与群では脳梗塞内への T 細胞の浸潤が減少しており、発症 4 日目の脳梗塞体積が有意に縮小することが明らかとなった⁴⁾。この結果は脳内に T 細胞が浸潤することが脳梗塞の病態の進行に重要であることを示唆している。

脳虚血における IL-23, IL-17 の機能

T 細胞が産生する炎症性サイトカインとしては IFN- γ や IL-17 が代表的である。IFN- γ は神経細胞にアポトーシスを誘導することが報告されており、IFN- γ の存在自体は神経毒性に働くと考えられるが、われわれの検討では IFN- γ KO マウスは有意な梗塞体積の縮小を示さなかった⁴⁾。IFN- γ の産生は発症 3 日目でピークとなり、ヘルパー T 細胞(Th1)と CTL 細胞が主な産生細胞であった。

一方で IL-17 はヘルパー T 細胞、キラー T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NKT 細胞などから産生され、実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル(EAE)において炎症を促進して病態を悪化させる炎症性サイトカインとして注目されている⁵⁾。通常は、マクロファージや樹状細胞によって産生される IL-23 が IL-17 の産生誘導に重要な役割を持つ。IL-17 は神経細胞に直接的な作用はあまり報告されていないが、EAE においてはアストロサイトやマクロファージに対して作用し、TNF- α 、IL-1 β 、MMP-9 などの炎症性サイトカイン・因子の発現を促進する作用が報告されている⁶⁾。

われわれは IL-23 や IL-17 の KO マウスをもちいて脳虚血モデルを作製し、IL-17 KO、IL-23 KO マウスともに脳梗塞体積が縮小し、神経症状が改善することをみいだした(Fig. 1)⁴⁾。IL-23 は脳虚血発症 1 日目に、血液中から脳内に浸潤したマクロファージによって産生されることが骨髄キメラをもちいた解析により判明した。この IL-23 は、マクロファージが遅れて浸潤する T 細胞に機能して IL-17 産生を誘導していた。虚血脳組織における IL-17 の産生細胞を検索したところ、驚くことに $\gamma\delta$ T 細胞が主に IL-17 を産生していることが明らかとなった。 $\gamma\delta$ T 細胞の除去抗体や $\gamma\delta$ TCR KO マウスをもちいて

¹⁾ 慶應義塾大学医学部微生物学免疫学教室 [〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35]

²⁾ 九州大学大学院医学研究院病態機能内科

³⁾ 慶應義塾大学医学部神経内科

(受付日: 2010 年 5 月 21 日)

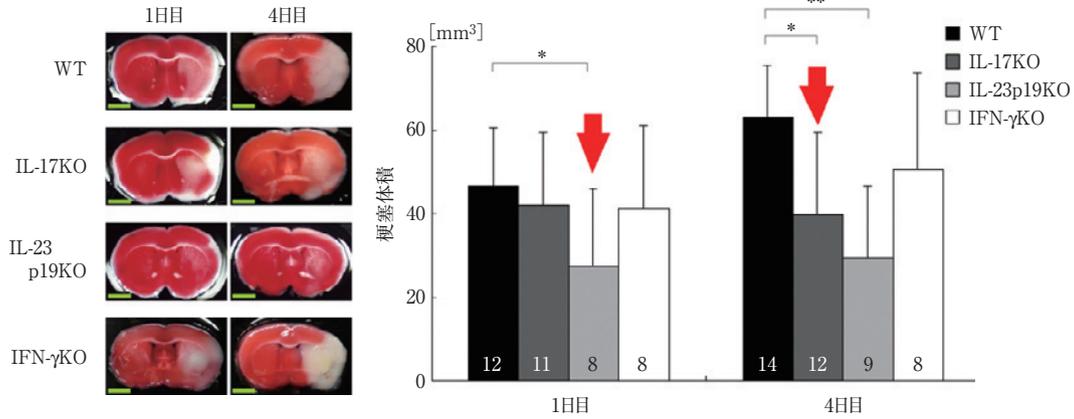


Fig. 1 各サイトカイン欠損マウスの発症 1 日目と 4 日目の梗塞体積 (TTC 染色). WT : 野生型マウス. IL-23 KO マウスは発症 1 日目から, IL-17 KO マウスは発症 4 日目に梗塞体積が縮小する. (参考文献 4 より引用)

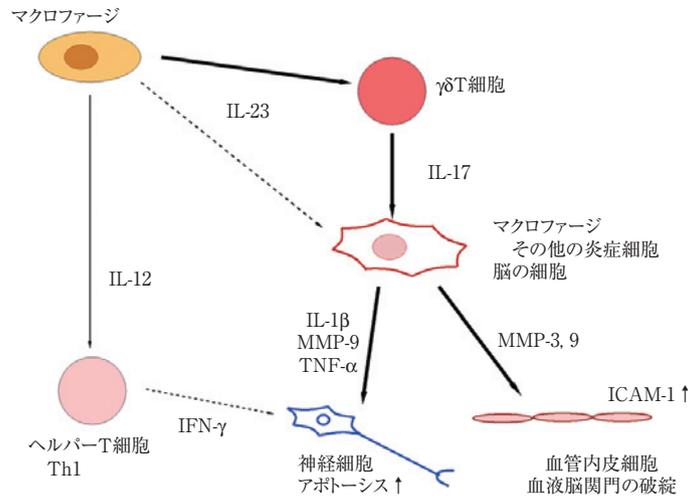


Fig. 2 脳虚血における IL-23 と IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞の機能. 脳虚血早期にマクロファージから産生された IL-23 は, 亜急性期に脳内に浸潤した $\gamma\delta$ T 細胞の IL-17 産生を誘導する. IL-23 や IL-17 は脳内の種々の細胞に機能して組織障害を促進する. (参考文献 4 より引用)

$\gamma\delta$ T 細胞を除去した状態で脳虚血モデルを作製すると脳梗塞体積が有意に縮小した. $\gamma\delta$ T 細胞は脳梗塞巣の辺縁部に集まっていることから, 脳梗塞亜急性期における炎症の促進, 梗塞巣の拡大に寄与していると考えられる. また, 血液内では T 細胞の数%程度しか存在しない $\gamma\delta$ T 細胞が, 脳梗塞巣では T 細胞の 20~30% 程度を占めることから, 何らかの機序によって $\gamma\delta$ T 細胞が脳内に集積していることが示唆された. $\gamma\delta$ T 細胞が産生した IL-17 は脳虚血組織における TNF- α , IL-1 β , MMP, ICAM-1 などの発現を増加させていることから, 炎症の促進や脳血液関門の破綻に関与していると考えられた (Fig. 2).

われわれはさらに p40 中和抗体による神経保護効果の検討をおこなった. p40 は IL-23 と IL-12 の common subunit (IL-23 は p40/p19 の heterodimer, IL-12 は p40/p35 の het-

erodimer) であり, IL-23 は IL-17 産生 T 細胞の誘導に, IL-12 は IFN- γ 産生 T 細胞の誘導に重要な役割を担う. したがって, p40 を中和することによって IL-23 による炎症促進作用を抑制し, IL-17 や IFN- γ を産生する炎症性 T 細胞の誘導をも抑制することが期待される. 実際に p40 抗体の投与により脳梗塞体積は発症 1 日目より有意に縮小することから, これらの炎症性サイトカインを標的とした新たな神経保護療法の可能性が示唆された⁷⁾.

Treg や IL-10 による神経保護効果

IL-10 は抗炎症性サイトカインとして知られ, 脳虚血においては神経保護作用がある. IL-10 を過剰発現させるアデノウイルスベクターを脳室内投与すると, 神経細胞死が抑制されて

脳虚血のダメージが軽減する⁸⁾。最近、制御性 T 細胞 (Treg) が種々の病態で炎症を抑制する機能を持つことが注目されているが、脳虚血においては IL-10 の産生を通じて、TNF α や IFN- γ の作用を抑制することにより神経保護的な作用を持つことが報告されている⁹⁾。IL-10 はマクロファージに作用して炎症性サイトカインの産生を抑制することから、IL-10 の主な標的はマクロファージやミクログリアと考えられている。制御性 T 細胞を誘導して IL-10 の産生をうながすようなアプローチによって新たな神経保護療法を開発できる可能性がある。

おわりに

以上のように、種々の T 細胞とそれらの産生するサイトカインは脳虚血の病態と密接に関連している。炎症性 T 細胞の

浸潤を抑制し、炎症性サイトカインの誘導を抑制することによって、脳梗塞亜急性期にも使用可能な新たな神経保護療法を開発できる可能性がある。

文 献

- 1) Barone FC, Feuerstein GZ. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999;19:819-834.
- 2) Jander S, et al. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995;15:42-51.
- 3) Yilmaz G, et al. *Circulation* 2006;113:2105-2112.
- 4) Shichita T, et al. *Nat Med* 2009;15:946-950.
- 5) Komiyama Y, et al. *J Immunol* 2006;177:566-573.
- 6) Kang Z, et al. *Immunity* 2010;32:414-425.
- 7) Konoeda F, et al. *Biochem Biophys Res Commun* in press.
- 8) Ooboshi H, et al. *Circulation* 2006;111:913-919.
- 9) Liesz A, et al. *Nat Med* 2009;15:192-199.

Abstract

Role of T lymphocytes in ischemic brain injury

Takashi Shichita, M.D., PhD.¹⁾²⁾, Fumie Konoeda, M.D., PhD.¹⁾³⁾ and Akihiko Yoshimura, PhD.¹⁾

¹⁾Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Keio University

²⁾Department of Medicine and Clinical Science, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

³⁾Department of Neurology, School of Medicine, Keio University

Recently, inflammation has been implicated in the progression of cerebral ischemic injury. Especially, T lymphocytes have been shown to infiltrate into the ischemic brain 24 hours after the onset, however, the function and specific subpopulation of these infiltrated T lymphocytes have not been fully understood.

By using cytokine-deficient mice with transient focal ischemia model, we have shown that IL-23 and IL-17 but not IL-6 or IFN- γ play pivotal roles in the ischemic brain injury. We found that IL-23, which was mainly produced from infiltrated macrophages, induced IL-17-producing T lymphocytes in the ischemic brain. IL-23 and IL-17 expression increased 1 day or 3 day after ischemic injury, respectively, and promoted inflammatory responses by increasing the expression of neurotoxic factors. To our surprise, IL-17 was mainly produced by $\gamma\delta$ T lymphocytes, but not helper T cells.

Based on these findings, we have tried to develop new therapeutic strategy for the progression of brain infarction. We found that administration of FTY720 (Fingolimod) and antibody against $\gamma\delta$ T lymphocytes attenuated ischemic brain damage. Furthermore, antibody against p40 which neutralizes both IL-23 and IL-12 simultaneously was also effective. Therefore, anti-cytokine therapy will be applicable for neuroprotection in the delayed phase of brain ischemia.

(*Clin Neurol* 2010;50:878-880)

Key words: Brain ischemia, T lymphocyte, IL-23, IL-17, $\gamma\delta$ T lymphocyte