

自己免疫疾患：慢性関節リウマチの分子治療の可能性

古澤 忍

Molecular Regulation of Autoimmune Disease: New Therapeutic Strategy for the Treatment of Rheumatoid Arthritis

Shinobu FURUSAWA

(Received November 22, 2003)

1. はじめに

特定疾患（難病）とは、原因が不明で治療方法が確立されていない疾患を総称する。その中には神経病疾患、膠原病、循環器系疾患、消化器系疾患など様々な疾患群が含まれており、この多くは有効な治療法や薬剤が見出されず、患者は長期にわたる療養生活を余儀なくされている。現在は国の研究班によって100以上の疾患を対象に研究・調査が進められている。この難病には、自己の抗原に対する抗体（自己抗体）による自己免疫疾患（autoimmune disease）¹⁾が多くみられる。

慢性関節リウマチ（rheumatoid arthritis; RA）や膠原病（diffuse collagen disease）は、自己抗体の出現や自己反応性リンパ球の臓器浸潤が認められることから、難治性の自己免疫疾患として捉えられている。^{2,3)} その病因には患者の遺伝的素因に何らかの環境因子が加わり、さらに免疫異常、自己免疫を含めた複合的な要因により病態が形成されると考えられている（Fig. 1）。RAでは関節局所における様々な炎症細胞の著明な浸潤、血管新生ならびに滑膜細胞の異常増殖がみられる。この病的環境下で活性化された滑膜組織（滑膜肥厚）は肉芽様組織を形成し、軟骨・骨を破壊して最終的に関節機能の荒廃を招き、重大な機能障害を惹起させる。⁴⁾

日本でのリウマチ患者は2000年で70万人以上ともいわれ、絶え間ない痛みは日常生活を不自由にし、長い療養生活におけるリウマチ患者の実態は心身ともに過酷であり悲惨でもある。これまでの数多くの研究にもかかわらず、RAの病因がよくわからず、その治療法も決め手もなかったことから、画期的治療法が強く求められていた。こ

の数年間、自己免疫疾患に関する研究・治療法は著しく発展し、自己免疫疾患の発症機序に基づくターゲット分子による新しい治療法が示されている。⁵⁾ すなわち、抗原、レセプターを分子ターゲットとしたもの、あるいは細胞周期調節分子、アポトーシス誘導分子、接着分子、サイトカインなど分子レベルによる新しい治療戦略が提言されている。ここではRAの分子治療の可能性と実際について最近の知見を紹介したい。

2. リウマチにおける炎症性骨破壊・骨代謝制御

自己免疫性関節炎を特徴とするRAは、骨を吸収する破骨細胞（osteoclasts）が骨びらん部、軟骨下骨に増加して骨破壊（関節破壊）が進行する。破骨細胞は単球、マクロファージ系の造血細胞に由来する大型の多核細胞であり、骨吸収（破壊）をつかさどる。⁶⁾ その前駆物質は、骨表面において骨芽細胞/間質細胞による調節を受け破骨細胞へと分化・成熟する。近年、破骨細胞分化、活性化を決定づける因子群が同定され、その調節メカニズムが解明されつつある。これらの中で特に、破骨細胞分化因子（receptor activator of NF- κ B ligand; RANKL/osteoclast differentiation factor; ODF）は、骨吸収因子によって骨芽細胞/間質細胞上に誘導されるTNFファミリーに属する膜結合タンパク質であり、破骨細胞の分化、融合、生存、活性化のすべてを調節する因子として注目を集めている。また、TNF受容体ファミリーに属する膜結合タンパク質であるreceptor activator of NF- κ B（RANK）が破骨細胞におけるODFの受容体であることが証明されている。⁷⁾ したがっ

て、様々な骨吸収因子によって骨芽細胞/間質細胞の表面に誘導された ODF は、破骨細胞前駆細胞上の RANK 受容体と結合することにより、M-CSF の存在下で破骨細胞への分化・成熟のシグナルを伝達する。一方、破骨細胞形成抑制因子 (osteoprotegerin; OPG/osteoclastogenesis inhibitory factor; OCIF) は Yasuda ら⁸⁾ によって世界に先駆けて発見された。OCIF は TNF ファミリーに属する可溶性タンパク質であり、ODF に直接結合することにより ODF とその受容体との結合を妨害するおとり受容体 (decoy receptor) である。OCIF の生体での作用は、Yasuda ら⁸⁾ や Simonet ら⁹⁾ のグループが行った動物への投与実験、トランスジェニックマウスおよび遺伝子欠損マウス¹⁰⁾ により解析されており、*in vitro* と同様に破骨細胞の分化・成熟を抑制し、骨吸収を抑制することが明らかになっている。上述した ODF/RANKL-RANK 系とは別に、独立した炎症性サイトカイン (cytokine) による骨吸収機構の詳細も明らかになっている。RA 患者の関節滑膜において、IL-1 (interleukin-1), TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL-6 (interleukin-6) などの炎症性サイトカイン産生が亢進しており、RA の病態での関節破壊においてこれらのサイトカインの関与が以前から報告されている。2000 年に Li ら¹¹⁾ により、RANK 欠損マウスに TNF- α を投与すると投与部位の骨組織において破骨細胞が出現することが示され、TNF- α が RANK を介さず直接破骨細胞の分化を促進することが明らかとなった。一方、IL-1 は、破骨細胞の分化を促進しないが、破骨細胞の骨吸収を誘導すると考えられている。¹²⁾ 最近の研究により、RA の病態においての IL-6 と sIL-6R (可溶性 IL-6 receptor) の関係、および IL-17 (interleukin-17) や活性化 T 細胞との関係など破骨細胞形成における役割が徐々に解明されつつある。RA 患者関節液中では、IL-6 と sIL-6R 濃度に上昇が認められており、この破骨細胞形成は *in vitro* の系で抗 IL-6 抗体により抑制されることから、RA 患者の関節液中の IL-6 と sIL-6R 濃度の両者の上昇が破骨細胞の形成に促進的に関わっていることが示唆されている。

¹³⁾ IL-17 は活性化 T 細胞が産生するサイトカインであり、RA 患者の骨芽細胞に作用することにより、ODF/RANKL の発現を誘導し、破骨細胞の分化を促進すると考えられている。RA 患者の滑膜組織や関節液中では IL-17 の発現や濃度の上昇および ODF/RANKL mRNA の発現が認められており、活性化 T 細胞により産生される IL-17 が骨吸収に関与している可能性が示唆されている。^{14,15)} 一方、活性化 T 細胞により産生される IFN- α (interferon- α) が破骨細胞の形成を抑制することが示されている。

3. 遺伝子異常

自己免疫疾患は、遺伝素因に環境要因 (引き金) が加わって発症する。RA の疾患遺伝子座として、第 1 染色体 D1S214/D1S253, 第 8 染色体 D8S556, X 染色体 DXS1232 はそれぞれ RA1, RA2 および RA3 と命名されている。自己免疫疾患の 1 つである RA の疾患遺伝子 RA1 候補としては、第 1 染色体に位置する Fas ファミリーの一員で、構造的にも Fas 同様細胞外にシステインリピート構造を有し、細胞死を誘導する death receptor 3 (DR3) が見出されている。¹⁶⁾ RA1 遺伝子は、既知の DR3 上における変異体であり、そのため転写が早期に終結し、細胞外断片が生成し、断片は正常 DR3 分子と 3 量体を形成する。そのため、細胞死に関わる下流 caspase 8 以下のシグナル伝達が阻害されると考えられている。アポトーシス受容体の Fas または Fas リガンドに異常のある MRL/Ipr マウスは、リンパ系過剰増殖を来とし、自己免疫疾患を発症することが知られている。¹⁷⁾ こうした事実は、抗原特異的免疫応答の過程で、増幅・活性化したリンパ球に適切な細胞死 (アポトーシス) が誘導されないと自己免疫疾患に至ることを示唆し、自己免疫疾患発症において細胞死機構の破綻が重要な役割を演ずることが示されている。しかし、Fas が細胞死シグナルの受容体として唯一最重要な分子であるか否かはまだ明確でなく、同じファミリーの TNFR や DR3 との間の機能的および臓器分布上の住み分けや分業の実体は明らかでない。

X染色体に位置する疾患遺伝子 *RA3* として、*Dbl* がん原遺伝子に変異が見出されている。¹⁸⁾ X染色体にあるRAの疾患遺伝子 *RA3* は、DXS984に位置する *Dbl* がん原遺伝子の3'末端の部分が欠失変異した遺伝子である。塩基番号2697番目から2919番目までの223塩基が欠失していて、2697塩基以降がコードする65アミノ酸が欠損している。*Dbl* がん原遺伝子は、グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 活性を有し、^{19,20)} Rhoタンパク質を細胞膜から細胞内の標的タンパク質へ移送するシャトル機能を担うほか、Rac, Cdc42 および Rho の上流に位置してこれらの活性化をつかさどる。Rac, Cdc42 および Rho は生理的に好中球など食細胞の膜の動き、貪食、移動などを支配し、また Rac は活性酸素生成に関わる NADPH オキシダーゼの構成成分でもある。^{21,22)} したがって C 末端を欠く *RA3* 遺伝子は、Rho など G タンパク質の移送お

よび Rac や Cdc42 の活性化を阻害して、好中球機能や食細胞の抗原性提示能を障害し、炎症を遷延化させる可能性が考えられる。このように RA の疾患感受性遺伝子は、生理的な細胞増殖と細胞死に関わる分子であり、その機能異常が自己免疫疾患の遺伝素因を形づくっていることが示唆されている。

4. 標的による分子治療

難病である膠原病や RA などの自己免疫疾患に対してサイトカイン、アポトーシス誘導分子、細胞周期調節分子、あるいは接着分子による分子治療・研究が治療戦略として注目されているが、治療の可能性とその課題を取り上げたい。

1) サイトカイン

サイトカインシグナルの研究は、近年大きな進展を示しており、その制御機構の詳細が次々

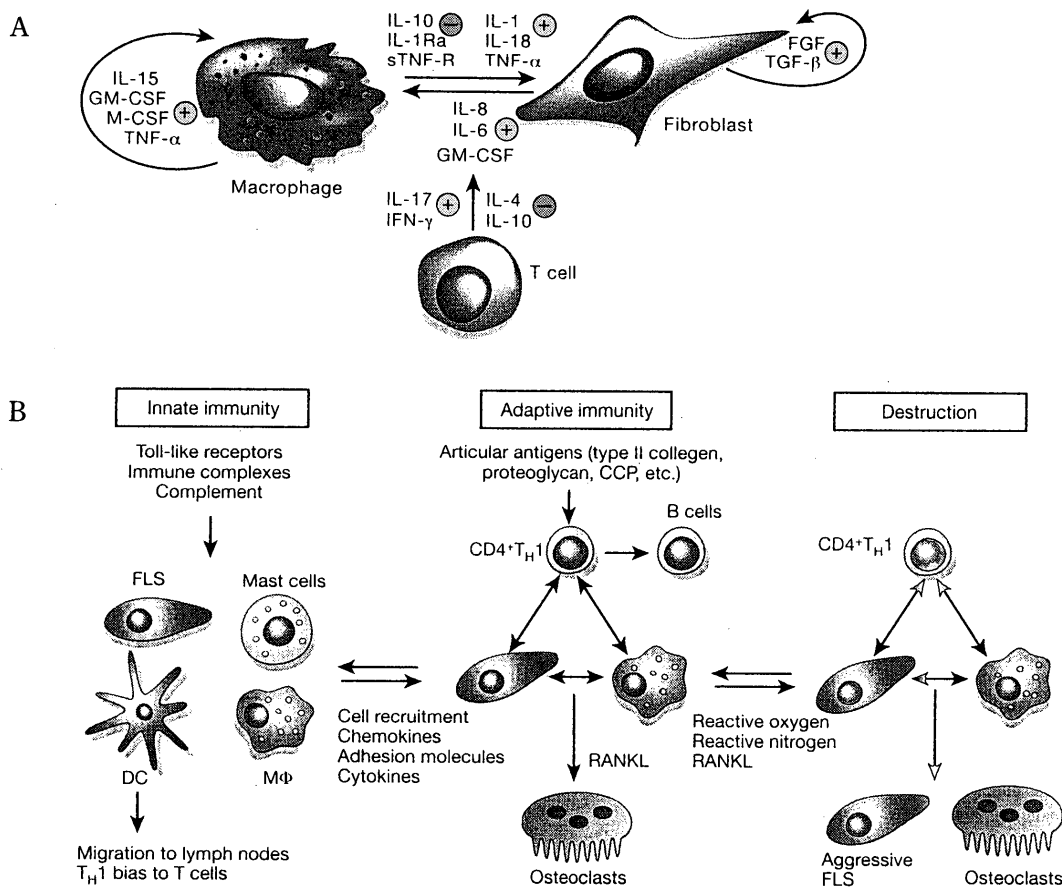


Fig. 1. Cytokine Networks (A) and A Proposed Model Implication Multiple Pathogenic Mechanisms in Rheumatoid Arthritis (B) (Firestein G. S., *Nature*, **423**, 356-3561, 2003)

と明らかになってきた。免疫細胞をはじめとする各種細胞から産生されるサイトカインは生体のホメオスタシスを維持するのに必要不可欠であり、またそのサイトカイン間にはクロストークが存在して複数のサイトカインが複雑に作用を及ぼしあって様々に調節がとられている (Fig. 1)。自己免疫性疾患、すなわち RA の関節局所では、IL-1, IL-6, TNF- α などの炎症性サイトカインが過剰に産生され、破骨細胞の活性化につながって最終的に軟骨・骨破壊を起こす。これまで知られているように多くのサイトカインは1つの分子であるにもかかわらず多彩な生理活性を有し、その過剰産生を制御するサイトカインネットワーク機構が存在する。最近の炎症性サイトカインを分子標的としたサイトカイン阻害療法が従来の治療に抵抗性の難治性炎症性疾患に対し優れた治療効果を示すことが実証されており、ここでは幾つか例を挙げてその概要を述べたい。

(1) TNF- α

TNF- α は、腫瘍、感染に対する防御機構として重要な生理学的役割を演じており、サイトカインカスケードの上流に位置すると考えられている。²³⁾ TNF- α のトランスジェニックマウスで関節炎が惹起する^{24,25)} ことから明らかなように、TNF- α の過剰産生は、関節炎の病態において RA の病態形成に深く関与していることが示唆されている。²⁶⁾ TNF- α は、単球/マクロファージ、T 細胞、B 細胞、ケラチノサイトなどから産生されるが、これらの細胞を刺激すると各細胞に特有のシグナル伝達系を介し、それに対応する転写因子が TNF- α 遺伝子プロモーター領域に結合する。これによって転写活性が高まり、TNF- α 遺伝子の転写が開始される。²⁷⁾ TNF- α は p55 (TNFR I) と P75 (TNFR II) の2種類のレセプター (Table 1) に3量体の形で結合し、シグナル伝達を開始されるが、その多くは TNFR I を介して伝達される。TNF- α による刺激では NF- κ B の活性化・増殖 (RA の病態と関係) とカスパーゼ活性化によるアポトーシスの2つの異なる現象が誘導されるが、²⁸⁾ それは TNFR I の death domain と呼ばれる部位に、

TNF receptor-associated death domain protein (TRADD) が結合し、TRADD の下流にその分岐点が存在している。

TNF- α の活性を制御する抗 TNF- α 抗体はすでに欧米 (1999 ~ 2000 年) で適応承認され、2003 年に我が国においても Crohn 病に続き適応が追加承認された。ヒト TNF- α と高い親和性を有するマウス Ig の可変領域 (25%) と、ヒト IgG1 κ 鎖から成るキメラ型抗 TNF- α モノクローナル抗体である infliximab は、TNF- α のレセプター TNFR I と TNFR II との結合を阻害する。²⁹⁾ 現在では抗 TNF- α 抗体の完全ヒト型抗体についても臨床試験が進められている。Infliximab の投与中においては中和抗体であるヒトキメラ抗体 (human anti-chimera antibody) の産生が認められるが、³⁰⁾ メトトレキサート (MTX) との併用では中和抗体産生の頻度が抑制されている。Infliximab は、MTX 投与によってもなお中等度から高度の活動性を有する RA に対し MTX と併用され、RA にみられる関節破壊を強力に抑制することが明らかになっている。³¹⁾ 抗 TNF- α 抗体の作用機序としては、TNF- α の中和、サイトカインカスケードを介した IL-1 β や IL-6 の産生抑制、細胞接着分子の抑制、滑膜細胞へのアポトーシス誘導、IL-10 誘導、TNF 産生細胞への細胞傷害作用が挙げられている。³²⁾ しかし、多くの中高年者に対して結核の発症リスクを著しく高めることが知られており、^{33,34)} それは新たな感染によるものではなく、既感染や不顕性感染の再活性化と考えられている。MTX との併用における関連性についても推測されているが、infliximab に関しては感染症の発症が危惧されており、使用にあたっては慎重な配慮が必要とされている。

(2) IL-6

多彩な生理活性をもつ炎症性サイトカイン・IL-6 は、T 細胞、B 細胞、単球などの血管系の細胞からばかりでなく、さまざまな細胞から産生され、自己免疫性の疾患の病態においても非常に重要な働きをしていることが明らかになっている。³⁵⁾ IL-6 の細胞内へのシグナル伝達

Table 1. Characterized Members of the TNF-Ligand and TNF-Receptor Families.*

| LIGAND | SOURCE OF LIGAND | RECEPTOR | DISTRIBUTION OF RECEPTOR | ABILITY TO INITIATE APOPTOSIS | CYTOPLASMIC MEDIATORS | MUTATION OR KNOCKOUT PHENOTYPE | RECEPTOR |
|--------------------------------|--|--|--------------------------|-------------------------------|---|---|---|
| TNF and lymphotoxin- α | TNF: macrophages, lymphocytes, keratinocytes, others. T cells | 55-kd TNF receptor 75-kd TNF receptor | Many cells Many cells | Yes (strong) Yes | TRADD, TRAP-1, 55.11 TRAF-1, TRAF-2 | Both TNF and lymphotoxin- α : absent lymph nodes, decreased lipopolysaccharide responses Lymphotoxin- α : absent lymph nodes | Decreased lipopolysaccharide responses; failure to contain listeria or mycobacteria infection Decreased lymphocyte proliferation; decreased dermal responses to TNF; decreased TNF-induced lethality |
| Lymphotoxin- β heteromer | T cells, others | Lymphotoxin- β receptor (TNF-receptor-related protein) | T cells, B cells, others | Yes | LAP-1 (CRAF-1) | ND | ND |
| Fas ligand | T cells | Fas receptor | Many cells | Yes (strong) | Tyrosine phosphatase (FAP-1), FADD (MORT-1) | Lymphoproliferation | Lymphoproliferation |
| Nerve growth factor | NA | Nerve growth factor receptor | Neurons, others | No | ND | NA | Neuropathy |
| CD40 ligand | T cells | Nerve growth factor receptor | B cells, T cells | No | CRAF-1, CAP-1 | X-linked immunodeficiency with increased IgM and decreased or absent IgG, IgA, IgD | X-linked immunodeficiency with increased IgM and decreased or absent IgG, IgA, IgD |
| CD27 ligand | T cells | CD27 | T cells | ND | ND | ND | ND |
| CD30 ligand | T cells | CD30 | T cells | ND | ND | ND | ND |
| OX-40 ligand | T cells | OX-40 | T cells | ND | ND | ND | ND |
| 4-1BB ligand | T cells | 4-1BB | T cells | ND | ND | ND | ND |

*Other members of these families include the CD27, CD30, OX-40, and 4-1 BB ligands and receptors. TRADD denotes TNF-receptor-associated death domain, TRAP-1 TNF-receptor-associated protein 1, TRAF TNF-receptor-associated factor, LAP-1 latent membrane protein type 1-associated protein, CRAF-1 CD40-receptor-associated factor 1, ND not determined, FAP-1 Fas-associated protein 1, FADD (or MORT-1) Fas-associated death domain, NA not applicable, and CAP-1 CD40-associated protein 1. (Bazzoni F. *et al.* *N. Engl. J. Med.*, **26**, 1717-1725, 1996)

(Fig. 2) は、IL-6 が IL-6R に結合し、IL-6-I と L-6R の複合体が IL-6 ファミリーサイトカインのシグナル伝達物質である gp130 に結合した後、gp130 のホモダイマー形成が誘導されたことから始まる。最近、IL-6 ファミリーサイトカインのレセプターである gp130 のチロシン残基に点変異を導入したノックインマウスで自己抗体産生などの免疫異常を伴う RA 類似の関節炎を発症することが報告され、³⁶⁾ IL-6 シグナルの異常が自己免疫疾患や炎症性疾患の発症に深く関与することが示されている。³⁷⁾

IL-6 は、抗体産生の誘導 (高 γ グロブリン血症や自己抗体であるリウマチ因子の出現)、肝細胞刺激因子 (HSF) 活性 (C 反応性タンパク質 (CRP)、フィブリノーゲンなどの急性期タンパク質の産生、血沈の亢進)、アルブミン産生の抑制 (血清アルブミンの低下)、巨核球の分化誘導 (血小板の増加)、および破骨細胞の活性化 (骨吸収により関節破壊) などを誘導することから、RA の多くの症状が IL-6 のこのような作用でもって説明できると考えられている。³⁸⁾ また、RA 患者で認められる全身倦怠感や、

食欲の低下、体重の減少、微熱などの症状も血中 IL-6 の上昇と考えられ、骨膜組織からの IL-6 の産生も亢進していることが確認されている。³⁹⁾ これらの事実は、IL-6 のシグナル伝達を阻害することによって RA 治療が可能であることを示唆している。

IL-6R に対するヒト型化抗体として開発された IL-6 シグナルを阻害するヒト型化抗 IL-6 レセプター抗体 (humanized anti IL-6 receptor antibody; MRA) が、IL-6 を標的とした RA の分子治療として注目され、第 III 相臨床試験に向けて準備が進められている。この MRA は、214 個のアミノ酸残基から成る L 鎖と、449 個のアミノ酸残基から成る H 鎖が、S-S 結合によって結合している H₂L₂ タイプで、サブタイプは IgG1 の遺伝子組換え免疫グロブリンである。MRA は膜型 IL-6R および可溶性 IL-6 (sIL-6R) に結合し、その結合体は gp130 を介する IL-6 のシグナルを阻害し、炎症細胞浸潤の低下や matrix metalloproteinase (MMP) 陽性細胞の減少が *in vitro* や *in vivo* で確認されている。⁴⁰⁾ 自己免疫疾患様の病態を呈する IL-6 トランスジェニック

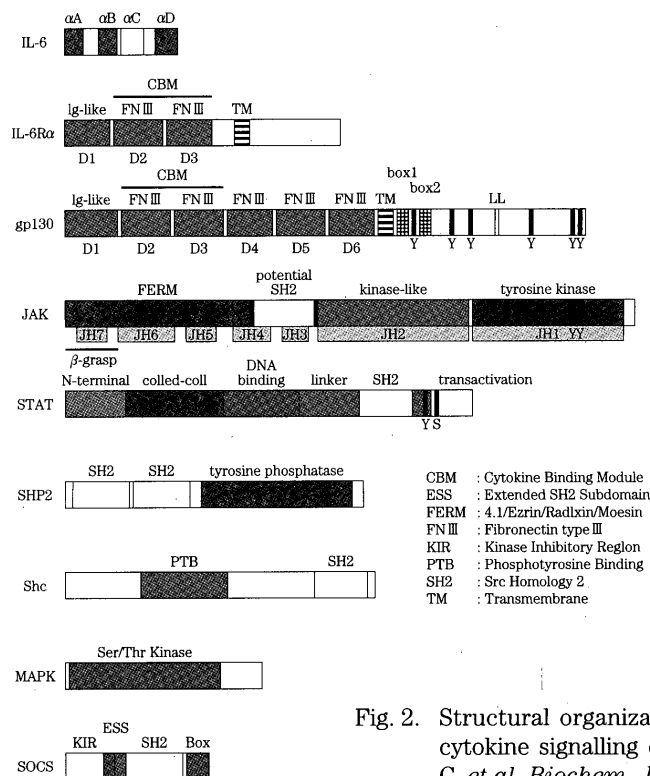


Fig. 2. Structural organization of various IL-6-type cytokine signalling components (Heinrich P. C. et al. *Biochem. J.*, **374**, 1-20, 2003)

マウスに対し IL-6 レセプター抗体の投与で、所見の改善や正常化がみられている。MRA の臨床試験 (I/II) においては、炎症のマーカーである CRP, 血沈, SAA, フィブリノーゲン値について顕著な改善がみられ, RA に対してきわめて有効な治療成績が示されている。⁴¹⁾ また, RA 患者では血清の血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 値の上昇⁴²⁾ が認められるが, MRA の投与により減少することから MRA による RA の臨床症状の改善には, 血管新生における VEGF の正常化も関与している可能性が示唆されている。さらに IL-6 は signal transducer and activation of transcription 3 (STAT3) の活性化を通じて T 細胞のアポトーシスを抑制する作用があることから, MRA の投与によって T 細胞のアポトーシスが誘導されることも推測される。

(3) IL-10

インターロイキン 10 (IL-10) は, Th1 (1 型

ヘルパー T 細胞) サブユニットの T 細胞機能や, 単球やマクロファージの主要組織適合抗原 (MHC) クラス II 分子の発現と, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α などの炎症性サイトカインの産生を抑制する, 抗炎症性サイトカインの代表的存在として知られている。最近, 炎症性サイトカイン産生と深く関わる NF- κ B の活性化に対する IL-10 の分子機構が提言されている (Fig. 3)。Trans-forming growth factor (TGF) を産生する制御性 T (regulatory T1; Tr1) 細胞は, CD4⁺T 細胞のなかで IL-10 を大量に産生して Th 細胞を抑制する免疫系の重要な細胞集団であることが判明している。⁴³⁾ このような意味でも IL-10 は注目され, 免疫異常や炎症性疾患の抑制と制御に重要であることが示されている。IL-10 は分子量 35 ~ 40kD の同型二量体 (ホモダイマー) の酸感受性の糖タンパク質であり, II 型サイトカインレセプターファミリー (cytokine receptor family, CRF) と呼称される, IL-10R α

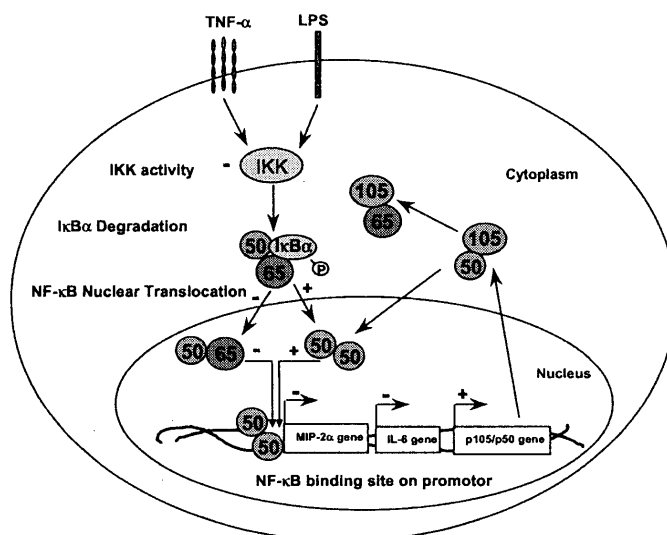


Fig. 3. Scheme representing the molecular mechanisms used by IL-10 to inhibit NF- κ B activity. In the absence of an activating stimulus such as TNF- α , IL-10 specifically induces the nuclear translocation of repressive p50/p50 homodimers, which compete with proinflammatory p65/p50 heterodimers for DNA binding to NF- κ B promoter sites on inflammatory genes such as IL-6 or MIP-2 α . In the presence of a stimulus such as TNF- α , IL-10 can suppress nuclear translocation and DNA binding of p65/p50 heterodimers by inhibiting IKK activity and thus delaying degradation of I κ B α . Conserved levels of I κ B α will sequester p65 in the cytoplasm, whereas p105/p50 expression is up-regulated and p50 is free to translocate to the nucleus to form homodimers. Up-regulated p105 may also additionally sequester p65 in the cytoplasm. In the absence of the p105/p50 gene, IL-10 loses its ability to suppress constitutive NF- κ B activity. Upon activation of p105/p50-deficient cells, p65 may recruit a different Rel protein to form transcriptionally active heterodimers, which can still be inhibited by IL-10 (Asadullah K. *et al. Pharmacol Rev.*, **55**, 241-269, 2003)

(IL-10R1)/IL-10R β (IL-10R2) の異型二量体 (ヘテロダイマー)^{44,45)} を介してシグナルが伝達される。RA で IL-10 の高産生型のハプロタイプ (haplotype) をもつ患者は骨破壊の程度が軽いという報告もあり、これらの事実からも IL-10 は実際に関節炎に対して防御的に働いているのではないかと推察されている。RA の関節破壊のうえで重要な働きをする MMP の発現を抑制する一方で、拮抗する tissue inhibitor of metalloprotease-1 (TIMP-1) の発現を IL-10 が促進することからも、IL-10 は RA の理想的な治療法になる可能性をもち、⁴⁶⁾ 動物実験モデルにおいて IL-10 遺伝子の導入による遺伝子治療が試みられ、関節炎の改善が認められている。

2) アポトーシス誘導分子

アポトーシス (apoptosis) の分子機構が明らかになるに従って、アポトーシスが様々な病態形成に関与していることが多くの研究によって示されている。アポトーシスのシグナル伝達は、カスパーゼ (caspase) を中心とする多くの分子群から構成される、きわめて巧妙で精緻なネットワークによって担われている。すなわち、アポトーシスのシグナル伝達においては、ミトコンドリアからのチトクローム c の放出、あるいは death-inducing signaling complex 形成などをトリガーとしたイニシエーターカスパーゼ (initiator caspase) のオートプロセッシングによる活性化と、それに続くエフェクターカスパーゼ (effector caspase) のクレベージと活性化が核 DNA の分断と細胞死を誘導する。アポトーシス異常の病態を大きく分けると、AIDS、神経変成疾患、劇症肝炎などの疾患の発症にはアポトーシスの亢進が密接に関わり、また癌、自己免疫疾患などではアポトーシスの不全が関与すると考えられている。^{47,48)}

RA 患者の関節局所では、滑膜組織の異常増殖が観察されている。RA の滑膜組織には、B 型滑膜細胞といわれる滑膜繊維芽細胞 (RASf, 各種サイトカインおよび MMP などのタンパク分解酵素の産生細胞) や、A 型滑膜細胞といわれる滑膜マクロファージ (各種サイトカインの主な産生

細胞) のほか、T 細胞 (サイトカインの産生や破骨細胞の直接的な活性化に関与する細胞) などが存在し、それぞれ関節炎の成立に関与している。さらにこれらの細胞はそれぞれアポトーシスに抵抗性であることが報告されている。⁴⁹⁾

滑膜細胞の Fas 依存性アポトーシスは炎症性サイトカインや成長因子により修飾される。すなわち、TNF- α は Fas 依存性アポトーシスを増強し、一方、TGF- β 1, IL-1 β , FGF は Fas 依存性アポトーシスを抑制する。^{50,51)} これら液性因子の作用機序は、Fas のシグナル伝達に重要な分子の発現調節を介している。RASf には、Fas が発現し、また滑膜浸潤 T 細胞では Fas ligand (FasL) を発現しているにもかかわらず、Fas を発現した RASf が FasL を発現する滑膜浸潤 T 細胞によりアポトーシスによって排除されない点については、いくつかの理由が考えられている。それは、関節液中には多量の可溶性 Fas (sFas) が存在することや、重症の RA 患者でアポトーシス誘導能を持たない可溶性 FasL (sFasL) が多く認められていることから、関節腔内では Fas 誘導性アポトーシスが阻害されているものと推測されている。さらに RASf のアポトーシス抵抗性には、Fas-associated death domain-like IL-1 β -converting enzyme-inhibitory protein (FLIP) や sentrin などの抗アポトーシス分子の発現が関与していることが推測されている。⁵⁰⁾ また、RASf では抗アポトーシス作用をもつ Bcl-2 分子の発現や、アポトーシスを誘導する癌抑制遺伝子 p53 の変異を認めており、これらの分子も RASf の抗アポトーシス活性に深く関わっていることが報告されている。^{52,53)} さらに RASf では、転写因子 NF- κ B の阻害分子である I κ B α の変異体を導入すると、TNF の単独では誘導されないアポトーシスが発現・誘導されることから、NF- κ B の活性化およびそれに伴うアポトーシス阻害分子・X-linked inhibitor of apoptosis protein の発現増加が RASf のアポトーシス抵抗性に関与していると考えられている。⁵⁴⁾ 一方、RA の滑膜マクロファージでは RASf の場合と同様に、Fas 依存性アポトーシスの低下や FLIP の発現を示し、NF- κ B も活性化

された状態にある。またRA滑膜組織に浸潤しているT細胞のアポトーシス抵抗性は、RA滑液中からT細胞を分離した場合にアポトーシスがみられることからT細胞自身の問題ではなく、RA滑膜組織の微小環境が影響していると考えられている。⁵⁵⁾ またこのT細胞では抗アポトーシス分子・Bcl-XLの発現量が多く見出されており、アポトーシス抵抗性と関連性が推測されている。

このようにRA滑膜組織を構成する細胞がアポトーシスによる除去を受けないことから、アポトーシス制御がRA治療の新たな標的になっている。アポトーシスを強制的に誘導することで、RAを治療しようとする試みがなされている。Fas誘導性のアポトーシスを欠くFasまたはFasL遺伝子ノックアウトマウス、あるいはFas遺伝子異常を有する患者では著明なリンパ節腫大、脾腫、未分化T細胞の蓄積、自己免疫様病態を示す。HTLV-Iトランスジェニックマウスの関節腔内への抗Fas抗体の投与、およびウイルスベクターを用いたFasLの遺伝子導入は、いずれもアポトーシスが導入され、関節炎が改善されることが報告されているが、⁵⁶⁾ 抗Fas抗体の投与は、劇症肝炎などの副作用を起こす可能性も指摘されている。そのほか、転写因子であるNF- κ B活性化の阻害やプロテアゾーム阻害、あるいはperoxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ)の刺激は、滑膜細胞にアポトーシスを誘導することからその試みが注目されている。⁵⁷⁾

3) 細胞周期調節分子

RAでは関節滑膜の炎症によって増生した滑膜組織で骨や軟骨が破壊されることから、細胞周期を制御して滑膜細胞の増殖を抑制するRA治療の研究が進められている。⁵⁸⁾ 関節滑膜では、リンパ球の浸潤、滑膜細胞の増殖および血管の新生がみられ、活性化された滑膜組織、パニス(pannus, 異常増殖した肉芽様の滑膜組織)と称される肉芽様組織を形成する。RAでの病的な環境では、プロテアーゼの産生、活性酸素の産生、破骨細胞の活性化が盛んになり、最終

的に骨・軟骨を破壊して重大な機能障害を招く。細胞周期調節系は、細胞周期の進行の鍵となるタンパク質をリン酸化(脱リン酸化)して細胞周期を制御しており、多くの制御分子が関与している。なかでもサイクリン依存性キナーゼ(cyclin-dependent kinase, CDK)が中心的役割を担っている。G₁/S期の移行を制御するサイクリン/CDKとしては、サイクリンD/CDK6もしくはCDK4、サイクリンE/CDK2がある。このCDK活性は、サイクリン/CDK複合体との結合によりその活性を阻害するタンパク質であるCDK inhibitor (CKI)により抑制される。このような細胞周期を停止させ、増殖を抑制する分子であるサイクリン依存性キナーゼインヒビター・CKIは、INK4ファミリー(p16^{INK4a}, p15^{INK4b}, p18^{INK4c}, p19^{INK4d})とCIP/KIPファミリー(p21^{Cip1}, p27^{Kip1}, p57^{Kip2})に分類されている。RA由来滑膜繊維芽細胞を増殖抑制すると、CKIのp16^{INK4a}やp21^{Cip1}が容易に発現誘導され、とくにp16^{INK4a}はRA由来滑膜繊維芽細胞において特徴的であることが示されているが、⁵⁹⁾ なぜp16^{INK4a}の発現が容易に誘導されるかは明らかでない。INK4ファミリーの中でp16^{INK4a}は、唯一癌細胞において高頻度に変異および欠損が認められることから、P53と並んで細胞周期の調節に極めて重要であると考えられている。⁶⁰⁾ また、p16^{INK4a}は、細胞が分裂寿命に達すると発現レベルが増加することや、増殖中の細胞に過剰発現させると細胞老化が誘導されることが知られている。実際、RA由来滑膜繊維芽細胞へのp16^{INK4a}遺伝子の導入では、炎症性サイトカインによる滑膜細胞の増殖が著しく抑制し、またRAのモデル動物であるラットアジュバント誘発関節炎の関節内へのp16^{INK4a}遺伝子の導入は、滑膜増生、単核球浸潤、骨・軟骨破壊を著しく抑制することが報告されている。⁵⁹⁾ このように癌治療で有効と考えられている細胞周期の制御をRA治療に応用するという戦略的な治療法が研究されている。

4) 細胞接着分子

ICAM-1 (intracellular adhesion molecule-1,

CD54) は、細胞間接着を媒介して生体の生理機能や病態形成において重要な役割を担う代表的な接着分子であり、インテグリン LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen, CD11a/CD18) や Mac-1 (CD11b/CD18) を主要なレセプターとする。遺伝子座はヒト 19 番染色体 (19p13.3-13.2) に存在し、5つの免疫グロブリン (Ig) 様 C2 領域から構成される Ig スーパーファミリー (IgSF) に属し、507 アミノ酸残基から成る分子量 90,000 の I 型貫通型糖タンパク質である。RA の慢性炎症部では、IL-1 や TNF- α などの炎症性サイトカインや活性酸素などの刺激によって NF- κ B や AP-1 などの転写因子の活性化を介して滑膜炎組織の血管内皮細胞や滑膜細胞上に ICAM-1 が発現誘導される。⁶¹⁾ RA 滑膜炎組織の病態組織では、T 細胞をはじめとする免疫担当細胞の集積が認められ、その病態形成の過程には自己反応性 T 細胞を介する抗原特異的免疫応答が関与していると考えられている。T 細胞はマクロファージなどの抗原提示細胞に提示される抗原情報を T 細胞レセプターを用いて認識するが、同時に CD28, CD40 リガンドや LFA-1 などを介する costimulation の共存が必須であり、両刺激の共存に T 細胞は活性化されることが明らかになっている。⁶²⁾ また循環血液中の T 細胞は、血管内皮細胞と接着し、ケモカインなどの遊走活性因子の刺激により内皮細胞間隙を血管外 (組織内) へ遊出する。一方、RA 滑膜細胞は、LFA-1/ICAM-1 を介する T 細胞との接着によって活性化され、ICAM-1 などの接着分子発現はサイトカイン刺激により伝達される細胞内シグナルにより誘導されるが、⁶³⁾ その分子自体がシグナル伝達に関与している可能性が示唆されている。このようなことから、ICAM-1 は RA の格好の標的となっている。ICAM-1 ノックアウトマウスでは、末梢血中の好中球は血管内皮細胞と接着して組織内へ遊出できないため、好中球の組織内への浸潤が阻害され、末梢血中の好中球は野生型に比べて高値を示すことが知られている。また LFA-1/ICAM-1 中和抗体や LFA-1/ICAM-1 アンチセンスオリゴ糖は関節炎モデルのマウスにおいて T 細胞の低

反応状態もしくは炎症制御において極めて効果的であることが示されているが、抗 LFA-1/ICAM-1 抗体の RA 患者への臨床的応用ではマウス抗体による免疫原性の誘導などが生じるなど検討すべき多くの課題が残されている。

おわりに

RA 治療薬は、19 世紀後半から使われ一世紀有余の歴史を有する。RA 治療薬としては消炎鎮痛を目的とする非ステロイド性抗炎症薬やステロイド薬をはじめ、メトトレキサートなどの疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARDs) などが今日まで用いられてきた。しかし、自己免疫疾患の病因が解明されるにつれて、20 世紀末に登場した RA の分子治療はこれまでの治療法を大きく変えようとしている。それは抗炎症の新しい治療戦略として登場した RA の分子治療が、RA 患者の関節疼痛の軽減、関節腫脹の抑制、全身症状の改善や関節破壊の進行を抑え、患者の QOL を高めることに寄与する可能性が見出されている。

引用文献

- 1) Cooper G. S., Miller F. W., Germolec D. R., *Int. Immunopharmacol.*, **2**, 303-313 (2002).
- 2) Ohmori H., Kanayama N., *Curr. Drug Targets Inflamm., Allergy*, **2**, 232-241 (2003).
- 3) Aune T. M., Maas K., Moore J. H., Olsen N. J., *Curr. Pharm. Des.*, **9**, 1905-1917 (2003).
- 4) Haugeberg G., Orstavik R. E., Kvien T. K., *Curr. Opin. Rheumatol.*, **15**, 469-475 (2003).
- 5) Motttram P. L., *Immunol. Cell Biol.*, **81**, 350-353 (2003).
- 6) Shimizu S., Shiozawa S., Shiozawa K., Imura S., Fujita T., *Arthritis Rheum.*, **28**, 25-31 (1985).
- 7) Nakagawa N., Kinoshita M., Yamaguchi K., Shima N., Yasuda H., Yano K., Morinaga T., Higashio K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **253**, 395-400 (1998).
- 8) Yasuda H., Shima N., Nakagawa N., Mochizuki SI., Yano K., Fujise N., Sato Y., Goto M., Yamaguchi K.,

- Kuriyama M., Kanno T., Murakami A., Tsuda E., Morinaga T., Higashio K., *Endocrinology*, **139**, 1329-1337 (1998).
- 9) Simonet W. S., Lacey D. L., Dunstan C. R., Kelley M., Chang M. S., Luthy R., Nguyen H. Q., Wooden S., Bennett L., Boone T., Shimamoto G., DeRose M., Elliott R., Colombero A., Tan H. L., Trail G., Sullivan J., Davy E., Bucay N., Renshaw-Gegg L., Hughes T. M., Hill D., Pattison W., Campbell P., Boyle W. J., *Cell*, **89**, 309-319 (1997).
- 10) Bucay N., Sarosi I., Dunstan C. R., Morony S., Tarpley J., Capparelli C., Scully S., Tan H. L., Xu W., Lacey D. L., Boyle W. J., Simonet W. S., *Genes Dev.*, **12**, 1260-1269 (1998).
- 11) Li J., Sarosi I., Yan X. Q., Morony S., Capparelli C., Tan H. L., McCabe S., Elliott R., Scully S., Van G., Kaufman S., Juan S. C., Sun Y., Tarpley J., Martin L., Christensen K., McCabe J., Kostenuik P., Hsu H., Fletcher F., Dunstan C. R., Lacey D. L., Boyle W. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 1566-1571 (2000).
- 12) Kobayashi K., Takahashi N., Jimi E., Udagawa N., Takami M., Kotake S., Nakagawa N., Kinosaki M., Yamaguchi K., Shima N., Yasuda H., Morinaga T., Higashio K., Martin T.J., Suda T., *J. Exp. Med.*, **191**, 275-286 (2000).
- 13) Kotake S., Sato K., Kim K. J., Takahashi N., Udagawa N., Nakamura I., Yamaguchi A., Kishimoto T., Suda T., Kashiwazaki S., *J. Bone Miner. Res.*, **11**, 88-95 (1998).
- 14) Kotake S., Udagawa N., Takahashi N., Matsuzaki K., Itoh K., Ishiyama S., Saito S., Inoue K., Kamatani N., Gillespie M. T., Martin T. J., Suda T., *J. Clin. Invest.*, **103**, 1345-1352 (1999).
- 15) Udagawa N., Kotake S., Kamatani N., Takahashi N., Suda T., *Arthritis Res.*, **4**, 281-289 (2002).
- 16) Shiozawa S., Komai K., Konishi Y., Hikasa M., Mukae N., Shiozawa K., Kitagawa M., Yoshikawa N., Kawasaki H., *Rev. Immunogenet.*, **2**, 133-139 (2000).
- 17) Tsuneyama K., Nose M., Nisihara M., Katayanagi K., Harada K., Nakanuma Y., *Pathol. Int.*, **51**, 418-424 (2001).
- 18) Komai K., *Arthritis Rheum*, **42**, s392 (1999).
- 19) Zheng Y., *Trends Biochem. Sci.*, **26**, 724-732 (2001).
- 20) Schmidt A., Hall A., *Genes Dev.*, **16**, 1587-1609 (2002).
- 21) Bokoch G. M., Diebold B. A., *Blood*, **100**, 2692-2696 (2002).
- 22) Lui W. Y., Lee W. M., Cheng C. Y., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1593**, 121-129 (2003).
- 23) Feldmann M., Elliott M. J., Woody J. N., Maini R. N., *Adv. Immunol.*, **64**, 283-350 (1997).
- 24) Keffer J., Probert L., Cazlaris H., Georgopoulos S., Kaslaris E., Kioussis D., Kollias G., *EMBO J.*, **10**, 4025-4031 (1991).
- 25) Li P., Schwarz E. M., *Spring Semin. Immunopathol.*, **25**, 19-33 (2003).
- 26) Campbell I. K., Roberts L. J., Wicks I. P., *Immunol. Cell Biol.*, **81**, 54-366 (2003).
- 27) Tang X., Fenton M. J., Amar S., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 4096-4101 (2003).
- 28) Agarwal B. B., Shishodia S., Ashikawa K., Bharti A. V., *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy*, **1**, 327-341 (2002).
- 29) Louie S. G., Park B., Yoon H., *Am. J. Health Syst. Pharm.*, **60**, 346-355 (2003).
- 30) Brenann F. M., Maini R. N., Feldmann M., *Br. Rheumatol.*, **31**, 293-298 (1992).
- 31) Nahar I. K., Shojania K., Marra C. A., Alamgir A. H., Anis A. H., *Ann. Pharmacother.*, **37**, 1256-1265 (2003).
- 32) Kavanaugh A. F., *Rheum Dis. Clin. North Am.*, **24**, 593-614 (1998).
- 33) Arend S. M., Breedveld F. C., van Dissel J. T., *Neth. J. Med.*, **61**, 111-119 (2003).
- 34) Gomez-Reino J. J., Carmona L., Valverde V. R., Mola E. M., Montero M. D., *Arthritis Rheum.*, **48**, 2122-2127 (2003).
- 35) Ishihara K., Hirano T., *Cytokine Growth Factor Rev.*, **13**, 357-368 (2002).
- 36) Atsumi T., Ishihara K., Kamimura D., Ikushima H., Ohtani T., Hirota S., Kobayashi H., Park S. J.,

- Saeki Y., Kitamura Y., Hirano T., *J. Exp. Med.*, **196**, 979-990 (2002).
- 37) Atreya R., Mudter J., Finotto S., Mullberg J., Jostock T., Wirtz S., Schutz M., Bartsch B., Holtmann M., Becker C., Strand D., Czaja J., Schlaak J. F., Lehr H. A., Autschbach F., Schurmann G., Nishimoto N., Yoshizaki K., Ito H., Kishimoto T., Galle P. R., Rose-John S., Neurath M. F., *Nat. Med.*, **6**, 583-588 (2000).
- 38) Madhok R., Crilly A., Watson J., Capell H. A., *Ann. Rheum. Dis.*, **52**, 232-234 (1993).
- 39) Houssiau F. A., Devogelaer J. P., Van Damme J., de Deuxchaisnes C. N., Van Snick J., *Arthritis Rheum.*, **31**, 784-788 (1988).
- 40) Matsuno H., Sawai T., Nezuka T., Uzuki M., Tsuji H., Nishimoto N., Yoshizaki K., *Arthritis Rheum.*, **41**, 2014-2021 (1998).
- 41) Nishimoto N., Yoshizaki K., Maeda K., Kuritani T., Deguchi H., Sato B., Imai N., Suemura M., Kakehi T., Takagi N., Kishimoto T., *J. Rheumatol.*, **30**, 1426-1435 (2003).
- 42) Nakahara H., Song J., Sugimoto M., Hagihara K., Kishimoto T., Yoshizaki K., Nishimoto N., *Arthritis Rheum.*, **48**, 1521-1529 (2003).
- 43) Mosmann T. R. *Immunol. Res.*, **10**, 183-188 (1991).
- 44) Ho A. S., Liu Y., Khan T. A., Hsu D. H., Bazan J. F., Moore K. W., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 11267-11271 (1993).
- 45) Liu Y., Wei S. H., Ho A. S., de Waal Malefyt R., Moore K. W., *J. Immunol.*, **152**, 1821-1829 (1994).
- 46) Asadullah K., Sterry W., Volk H. D., *Pharmacol. Rev.*, **55**, 241-269 (2003).
- 47) Grodzicky T., Elkon K. B., *Mt. Sinai. J. Med.*, **69**, 208-219 (2002).
- 48) Baier A., Meineckel I., Gay S., Pap T., *Curr. Opin. Rheumatol.*, **15**, 274-279 (2003).
- 49) Pope R. M., *Nat. Rev. Immunol.*, **2**, 527-535 (2002).
- 50) Kobayashi T., Okamoto K., Kobata T., Hasunuma T., Kato T., Hamada H., Nishioka K., *Arthritis Rheum.*, **43**, 1106-1114 (2000).
- 51) Tsuboi M., Eguchi K., Kawakami A., Matsuoka N., Kawabe Y., Aoyagi T., Maeda K., Nagataki S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **218**, 280-285 (1996).
- 52) Perlman H., Georganas C., Pagliari L. J., Koch A. E., Haines K. 3rd, Pope R. M., *J. Immunol.*, **164**, 5227-5235 (2000).
- 53) Firestein G. S., Echeverri F., Yeo M., Zvaifler N. J., Green D. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 10895-10900 (1997).
- 54) Zhang H. G., Huang N., Liu D., Bilbao L., Zhang X., Yang P., Zhou T., Curiel D. T., Mountz J. D., *Arthritis Rheum.*, **43**, 1094-1105 (2000).
- 55) Salmon M., Scheel-Toellner D., Huissoon A. P., Pilling D., Shamsadeen N., Hyde H., D'Angeac A. D., Bacon P. A., Emery P., Akbar A. N., *J. Clin. Invest.*, **99**, 439-446 (1997).
- 56) Fujisawa K., Asahara H., Okamoto K., Aono H., Hasunuma T., Kobata T., Iwakura Y., Yonehara S., Sumida T., Nishioka K., *J. Clin. Invest.*, **98**, 271-278 (1996).
- 57) Kawahito Y., Kondo M., Tsubouchi Y., Hashiramoto A., Bishop-Bailey D., Inoue K., Kohno M., Yamada R., Hla T., Sano H., *J. Clin. Invest.*, **106**, 189-197 (2000).
- 58) Nasu K., Kohsaka H., Nonomura Y., Terada Y., Ito H., Hirokawa K., Miyasaka N., *J. Immunol.*, **165**, 7246-7252 (2000).
- 59) Taniguchi K., Kohsaka H., Inoue N., Terada Y., Ito H., Hirokawa K., Miyasaka N., *Nat. Med.*, **5**, 760-767 (1999).
- 60) Osada H., Takahashi T., *Oncogene*, **21**, 7421-7434 (2002).
- 61) Tanaka Y., Nomi M., Fujii K., Hubscher S., Maruo A., Matsumoto S., Awazu Y., Saito K., Eto S., Minami Y., *Arthritis Rheum.*, **43**, 2513-2522 (2000).
- 62) Schwartz R. H., *J. Exp. Med.*, **184**, 1-8 (1996).
- 63) Tanaka Y., *Drugs Today*, **37**, 477-484 (2001).