

「HLA と免疫疾患」、西村 泰治、**病理と臨床** (文光堂) 16 (5); 581-592,1998.

はじめに

ヒトの主要組織適合遺伝子複合体 (major histo-compatibility complex : MHC) である HLA 遺伝子は高度の多型性を示し、HLA 遺伝子領域の優れた遺伝標識となっている。患者集団と健康対照集団との間で HLA 対立遺伝子の頻度を比較することにより、HLA 遺伝子領域における疾患感受性遺伝子の存在を検定することができる。この場合、患者集団で頻度が増加している HLA 対立遺伝子そのものが疾患感受性を決定している場合と、HLA 対立遺伝子と連鎖不平衡にある別の遺伝子がこれを決定している場合とがある。

HLA 分子の機能は、抗原ペプチドを結合して T 細胞に提示することにある。近年、HLA 分子の立体構造が決定され、その細胞外ドメインの先端部分にはペプチドを収容するための複数のポケットをもつ溝が存在することが明らかとなった。また HLA 結合性自己および非自己ペプチドの解析が進み、HLA 分子との結合に重要な役割を担うペプチド上のアミノ酸残基の位置および種類 (HLA 結合モチーフ) が明らかにされた。さらに、HLA の多型 (polymorphism) はペプチド収容溝に集中し、その形状を変化させることにより、HLA 結合ペプチドのモチーフをも変化させる。このようにして HLA の多型が、特定のペプチドに対する免疫応答に起因する免疫疾患への感受性の個体差の形成に関わっていることが明らかに

されつつある。例えば、自己免疫疾患に感受性を示す特定の HLA クラス II 分子 (HLA-II) と自己ペプチドとの複合体に対して、T 細胞は完全な免疫寛容を獲得しておらず自己反応性を示すものが存在し、自己免疫病が発症することが明らかとなりつつある。

本稿では、HLA クラス II (HLA-II) 遺伝子の多型にもとづく自己免疫疾患への感受性の個体差の形成機序を中心に、これを HLA-II の構造と機能に照らし合わせて考えることにする。とくに日本人の自己免疫疾患の中にはアジア人に特有の HLA-II 対立遺伝子を有する個体が感受性を示し、特有の臨床所見を呈するものがあることに着目して、著者らが明らかにした研究成果を紹介する。

HLA クラス II 分子 (HLA-II) の構造と機能

HLA-II は抗原提示細胞 (APC) の表面に発現し、主に微生物などの細胞外非自己蛋白由来する 10 数個 ~ 30 数個のアミノ酸からなる抗原ペプチドを結合して CD4⁺ T 細胞に提示し、これを活性化する重要な機能を有する¹⁾ (図 1A)。APC は、たとえ非自己抗原の存在下でも自己が産生する膜あるいは分泌蛋白をエンドソーム系に取り込み、カテプシンなどの蛋白分解酵素により分解してできたペプチドを HLA-II に結合して細胞表面に発現している。このような HLA-II ・自己ペプチド複合体に対して、CD4⁺ T 細胞は胸腺あるいは末梢において寛容 (トレランス) を獲得しており反応を示さない (後述)。

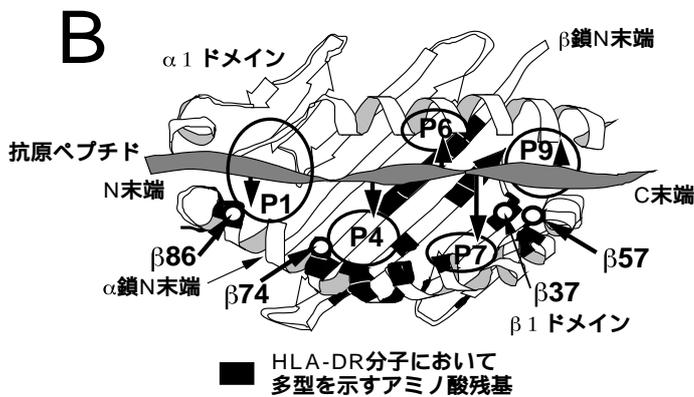
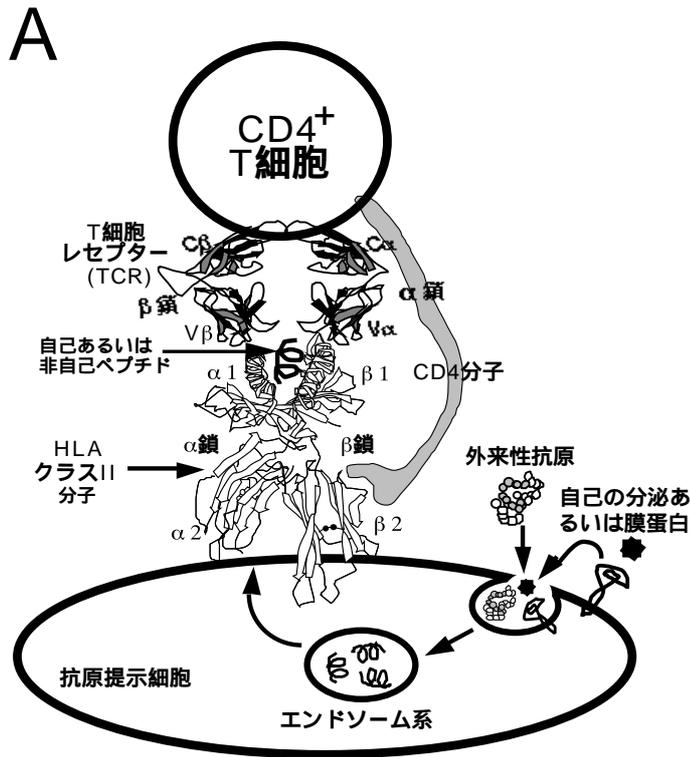


図1. HLA-II分子によるCD4⁺ T細胞 への抗原ペプチドの提示
(文献1, 3ほかを参考にして作成)

- A; 抗原提示細胞は通常は自己の膜あるいは分泌蛋白を、また細胞外あるいはエンドソームに寄生するウイルス、細菌などが存在する場合はこれらの外来抗原を取り込み、エンドソーム内のタンパク分解酵素によりペプチド断片へと分解する。その後これらの自己あるいは非自己ペプチドは、HLA-II分子と結合して細胞表面に発現する。CD4⁺ T細胞は自己ペプチドに対しては免疫寛容(トレランス)を獲得しており反応しないが、T細胞レセプター(TCR)を介して非自己ペプチドを認識し活性化される。α1, 2, 1およびβ1, 2は、HLA-IIの細胞外ドメインを示す。TCR部分のα鎖とβ鎖を、またCとVは定常領域と可変領域をそれぞれ示す。
- B; HLA-II (HLA-DR1)分子のペプチド収容溝を、T細胞レセプターの方向から見た図。楕円は数字で示したペプチド上のアミノ酸残基の側鎖(方向を矢印で示す。)を収容するポケットの位置を示し、数字は抗原ペプチド上で最もN末端側にある第1DRアンカー残基の位置をposition 1(P1)として、C末端方向に各アミノ酸残基に番号をつけたもの。DRB1*0405とDRB1*0406との間で多型の認められるβ鎖第37、57、74および86残基の位置を示した。なお第57残基はIDDM感受性のDQ8と非感受性のDQ9との間で唯一多型の認められる残基でもある。

細胞外液中に細菌やウイルスが存在するか、あるいはエンドソーム内に細菌が寄生していると、APCはこれをエンドソーム内で分解して、HLA-IIのごく一部がこれらの非自己抗原に由来するペプチドを結合して発現するようになる²⁾。

末梢の成熟した CD4⁺T細胞のほとんどは、このような自己の HLA- と非自己抗原ペプチドの複合体を認識するような T細胞レセプターを発現し、これを認識して活性化され種々のリシド産物を産生する。マウスの CD4⁺T細胞は、リシド産物の産生パターンにより、Th1 細胞（炎症性 T細胞）と Th2 細胞（ヘルパー-T細胞）とに分類される。Th1 細胞は IFN-、TNF などを産生し、APC や CD8⁺細胞傷害性 T細胞を活性化して炎症反応を誘導する特徴を有する。いっぽう Th2 細胞は、IL-4,5,6,10 などを産生して B細胞の形質細胞への分化・増殖を促し、抗体産生を促進する。ただしヒトの場合には、マウスほど明確に Th1 と Th2 細胞を区別することはできない。

HLA- の立体構造が決定され、その細胞外ドメインの先端部分には、ペプチド上の特定の場所に位置するアミノ酸(HLA-II アンカー残基)の側鎖を収容して結合するための複数のポケットをもった溝が存在することが明らかとなった³⁾(図 1B)。また HLA- 結合性自己および非自己ペプチドの解析が進み、特定の HLA- との結合に重要な役割を担う、ペプチド上のアミノ酸残基の位置および種類(HLA- 結合モチーフ)が明らかにされた。さらに HLA- の多型はペプチド収容溝に集中し、これが溝およびポケットの構造の違いを生み出すため、結合ペプチ

ドの構造(HLA- 結合モチーフ)も HLA- ごとに異なる⁴⁻⁹⁾。

HLA 遺伝子の多型と疾患感受性との相関

患者・対照研究 (case control study) によって、特定の HLA 対立遺伝子または HLA アレルタイプ (1本の染色体上に連鎖する HLA 対立遺伝子の組み合わせ)が、特定の疾患の患者集団で有意に増加あるいは減少している (疾患と HLA との正あるいは負の相関)ことが明らかにされている (表 1)。とりわけ、強直性脊椎炎、ライター病と HLA-B27、ルポエリシト DR2 (DRB1*1501) および、インスリン自己免疫症候群 (平田病) と DR4 (DRB1*0406) との正の相関は著しく強く、患者の HLA の検索は診断に際して有用である。さらに慢性関節リウマチ、インスリン依存型糖尿病、Vogt-小柳-原田病と DR4(DRB1*0405)-DQ4(DQA1*0302- DQB1*0401)、乳幼児発症重症筋無力症と DR9(DRB1*0901) または DR13 (DRB1*1302)、多発性硬化症、全身性エリテマトーデスと DR2(DRB1*1501)などの正の相関が知られている¹⁰⁾。

以上の相関は、日本人におけるものであり、人種が異なると相関を示す HLA も異なる場合が多い。これらの疾病はすべて単純なモデル型の遺伝を示すような遺伝性疾患ではなく、複数の遺伝要因と環境要因との相互作用により発症する、いわゆる多因子疾患である。したがって以下に述べるような機序により、特定の HLA 対立遺伝子あるいはその近傍に位

表1 HLAと疾病との相関

(文献10, 17, 18, 22, 25,26などを参考に作成)

HLA	人種	患者群		健康対照群に おける陽性率(%)	相対 危険度
		数	陽性率(%)		
強直性脊椎炎					
B27	日本人	211	85	1.5	208
B27	白人	2130	89	9	69
B27	黒人	33	58	4	54
ライター病					
B27	白人	906	80	9	37
ベーチェット病					
B5(B51*)	日本人	91	57	14	7.9
B5	白人	150	31	12	3.8
尋常性乾癬					
Cw6	日本人	262	27	4	8.5
Cw6	白人	353	56	15	7.5
ナルコレプシー					
DR2(DRB1*1501)**	日本人	92	100	13	358
DR2(DRB1*1501)	白人	45	100	22	130
インスリン自己免疫症候群(IAS)					
DRB1*0406	日本人	50	84	8	56.6
慢性関節リウマチ(RA)					
DR4(DRB1*0405)	日本人	204	71	41	3.4
DR4(主にDRB1*0401)	白人	1127	68	25	3.8
DR4(主にDRB1*0401)	黒人	109	40	10	5.4
インスリン依存型糖尿病(IDDM)					
DR4(DRB1*0405)	日本人	84	68	39	3.3
DQA1*0301	日本人	47	45	16	19.7
DQB1 non-Asp57 ホモ接合***	白人	607	73	26	7.4
DQB1 non-Asp57 ホモ接合	黒人	82	74	27	7.7
全身性エリテマトーデス(SLE)					
DR2(DRB1*1501)	日本人	53	32	14	2.9
DR2(DRB1*1501)	白人	390	25	16	1.8
DR3(DRB1*0301)	白人	390	27	12	2.7
DR2(DRB1*1501 または 1503)	黒人	72	47	21	3.3
多発性硬化症(MS)					
DR2(DRB1*1501)	日本人 <small>(西洋型MS)</small>	47	36	14	3.4
DP5(DPB1*0501)	日本人 <small>(アフリカ型MS)</small>	44	89	63	4.6
DR2(DRB1*1501?)	白人	1051	51	27	2.7
重症筋無力症(MG)					
DR9(DRB1*0901?)	日本人	43	86	27	16.4
DR13(DRB1*1302)	(2才以下)	43	58	16	7.1
DR3(DRB1*0301?)	白人	223	35	21	2.2
Vogt-小柳-原田氏病					
DR4(DRB1*0405)	日本人	63	95	27	46.7
DQ4(DQA1*0302 -DQB1*0401)	日本人	63	92	20	41.3
ブタクサ(Amb a V)アレルギー					
DR2-Dw2(DRB1*1501?)	白人	38	95	22#	62.7

* B51は、血清学的に同定されたB5の亜型である。

** ()内はDNAレベルで同定された対立遺伝子を示す。?は直接DNAは検索されていないが非常に可能性が高いことを示す。

*** DQb鎖の第57アミノ酸残基がアスパラギン酸以外のアミノ酸をコードするDQB1対立遺伝子に関してホモ接合であることを意味する。

Amb a V以外のブタクサ(short ragweed)アレルギーに対するIgE抗体陽性アレルギー患者における頻度

置する遺伝子が、これらの疾患の遺伝要因の1つとなっていると考えるべきである。

HLA と疾患との相関が生じる機序には、以下の二通りが考えられる。まず第1は、HLA そのものが特定の自己あるいは非自己抗原に対する免疫応答の個体差を決定することにより病気への感受性を直接的に決定している場合である。たとえば、自己免疫疾患などがその例であると推定される。また HLA-II に由来するペプチドが HLA-II に結合する自己ペプチドとなりうることが知られており、疾患感受性を示す HLA-II に由来するペプチドと HLA-II の複合体が、胸腺における T 細胞の正選択 (positive selection) に重要な役割を担い、このような T 細胞の中に自己免疫疾患を誘導する自己反応性 T 細胞が含まれる可能性も提唱されている。

第2は、HLA と密に連鎖した HLA 以外の疾病責任遺伝子が、特定の HLA 対立遺伝子と連鎖不平衡にある場合である。その実例としては、補体第2、第4あるいはB因子欠損症および21水酸化酵素の欠損による先天性副腎過形成などがある。これらの疾患は、特定の HLA-B および HLA-DR 対立遺伝子と連鎖した、補体第2、第4、B因子あるいは21水酸化酵素の構造遺伝子に突然変異が生じ、機能を有する蛋白質が産生されないことに起因する。この場合、疾患と相関を示す HLA 対立遺伝子は単なるマーカー遺伝子に過ぎず、HLA と疾患発症との間には因果関係はない。たとえばカコブシのように HLA との相関は強いが、免疫学的病因の存在が明確でない疾

患の場合には、この可能性を考えておくことも重要である。

自己免疫疾患と HLA-II

HLA-II と相関を示す病気で目立つのは自己免疫疾患である。HLA-II は CD4⁺T 細胞に抗原ペプチドを提示する機能を有するので、これらの自己免疫疾患に CD4⁺T 細胞が関与していることが容易に推測できる。特定の HLA-II が自己免疫病に感受性を示す機序として以下の仮説が最も有力である。つまり感受性を示す HLA-II と特定の自己ペプチドとの複合体に対して T 細胞はトランスを獲得しておらず、これに自己反応性を示す T 細胞が存在する。いっぽう非感受性 HLA-II は、このような自己抗原ペプチドを結合しないか、結合してもそのような複合体に対して免疫系は無視 (免疫学的イグノランス) しているか、あるいは完全なトランスを獲得している (後述) (図2)。

T 細胞が自己 MHC・自己ペプチド複合体にトランスを獲得する機序は二つに大別される。一つは T 細胞の分化過程で、胸腺の皮髄境界から髄質において生じる、主に骨髄由来の抗原提示細胞の表面の自己 MHC・自己ペプチド複合体に対して強く反応する未熟 T 細胞のアポトーシスによる除去である。これは中枢性免疫寛容 (central tolerance) とも呼ばれる。いっぽう、末梢にのみ存在する自己 MHC・自己ペプチド複合体に対しては、これを発現する細胞が抗原刺激を一度も経験したことのない、いわゆるナイーブ T 細胞を活性化するために必須である CD80 あるいは CD86 などの

自己抗原ペプチドに対する自己反応性T細胞の免疫応答

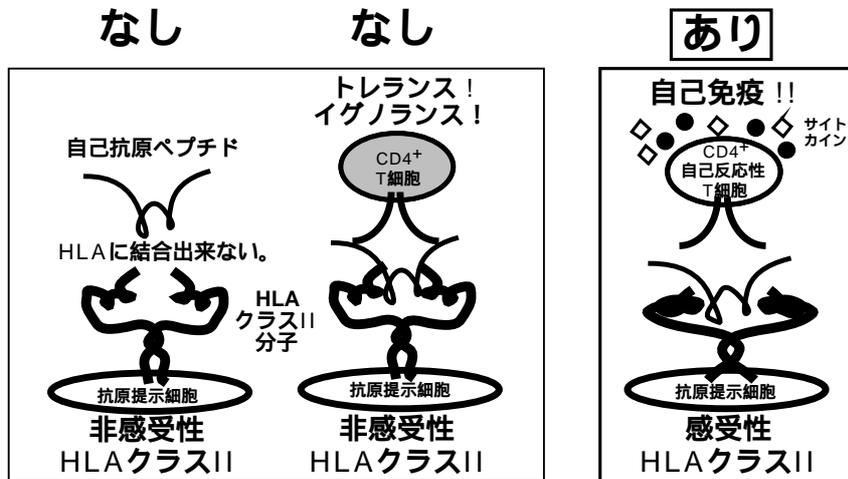


図2. 特定のHLA-II遺伝子が特定の自己免疫疾患への感受性を決定する機序に関する仮説

自己免疫疾患に感受性を示すHLA-II分子は、自己抗原ペプチドを自己反応性T細胞に提示してこれを活性化する。このT細胞がIL-4, 5, 6, 10などのTh2型のサイトカインを産生する場合には、自己抗体がされやすい。いっぽうIFN γ やTNFなどのTh1型のサイトカインを産生する場合には、炎症性の組織破壊がおりやすい。非感受性のHLA-II分子は、このような自己ペプチドを結合できないためにT細胞はこれを認識することはない。あるいは両者が結合してもこのような複合体の細胞表面での密度が高い場合には、そのような複合体に対して親和性を示すTCRを発現するT細胞は胸腺で消滅(クローン欠失)するか、末梢でアナジーにおちいることにより免疫寛容(トレランス)を獲得している。いっぽうHLA・自己ペプチドの細胞表面での密度が低く成熟T細胞を活性化するには至らないものは、免疫系からまったく無視されており(イグノランス)、免疫寛容(トレランス)も成立していない。

副刺激分子(costimulatory molecule) を発現しないことなどによりトランスが獲得される。これは末梢性免疫寛容(peripheral tolerance) と呼ばれる。このような細胞上の自己 MHC・自己ペプチド複合体を認識したナイーブ T 細胞は、その後たとえ副刺激分子を発現する抗原提示細胞上に提示された自己 MHC・自己ペプチド複合体を認識しても活性化されない、いわゆるアジグ-の状態に陥る。

自己免疫疾患でも自己反応性 T 細胞が Th1 優位であるのか Th2 優位であるのかによって病態も異なってくる。たとえば、多発性硬化症 multiple sclerosis (MS) は、中枢神経系の神経繊維を取り囲むオリゴデンドロサイトの髄鞘のように含まれる、ミエリン塩基性蛋白(MBP) などに対する自己反応性 T 細胞(主に Th1 細胞)の応答にもとづく炎症が病因と考えられている^{10,11,12)}。また IDDM は、インスリンを分泌する膵臓のランゲルハンス島の細胞が、自己反応性 T 細胞(主に Th1 細胞)により破壊されるために生じると考えられている^{10,13,14)}。重症筋無力症(MG)では、神経・筋接合部において、筋肉に発現されているアセチルコリン受容体(AChR)に対して反応性を示す自己反応性 T 細胞(主に Th2 細胞)の出現が病因と考えられるが、近年マウスの実験 MG の発症に IFN の重要性が指摘されており Th1 細胞の関与も考えられる¹⁵⁾。Th2 サイトカインは AChR に対する自己抗体の産生を促進する。そして自己抗体の AChR 鎖への結合は、神経終末から分泌されるアセチルコリンの AChR への結合を阻止、あるいは AChR を膜表面から消

失させるなどの理由により筋肉の収縮を抑制する¹⁶⁾。平田らにより発見された IAS は、インスリンに対して低親和性のポリクローナル IgG を産生する東洋人に特有の自己免疫疾患である¹⁷⁾。自己抗体のインスリンからの解離による高インスリン血症に基づく低血糖発作が主な症状である。インスリンに自己反応性を示す Th2 細胞の出現が病因と考えられる。

日本人で HLA-II 対立遺伝子と強い相関を示す自己免疫疾患の中には、アジア人に特有の臨床所見を示す亜型が存在し、アジア人に特有の HLA-II を有する個体が感受性を示す。この点に着目して、著者らが日本人の自己免疫疾患患者を対象として得た研究成果を以下に示す。

インスリン自己免疫症候群 (IAS ; 平田病) における自己抗原エピトープの同定

平田らにより発見された IAS は、インスリンに対して低親和性のポリクローナル IgG を産生する自己免疫疾患である¹⁷⁾。患者の膵臓の Langerhans 島は過形成を示し、大量のインスリンを分泌している。大部分のインスリンは自己抗体を結合するが、抗体を結合しないインスリンによりグルコースの代謝は正常に行われている。自己抗体のインスリンからの解離による高インスリン血症に基づく低血糖発作が主訴である。患者の 43% は、チアマゾール(メチルチオゾール)、チオプリン(チオ)あるいはグルチンなどの SH 基を有し、還元作用を示す薬剤の投与後に発症している。IAS は良性の疾患で数カ月で自然治癒する 경우가多く、上記の薬剤が誘因となっている場合には、そ

の中止により改善する。内潟らは患者群では DRB1*0406 を有する者が 86%も存在し、健康対照群の 5%と比べ有意に増加していることを明らかにした¹⁷⁾。DRB1*0406 はアジア人に特有で白人では極めて稀な HLA-II 対立遺伝子であり、このことが IAS が白人では稀で患者の多くがアジア人であることの原因の一つと考えられる。さらに伊藤らは DRB1*0406 を有していれば、IAS 患者のみならず健康人でも末梢血リンパ球中に DRB1*0406 分子により提示されたインスリンを認識する自己反応性 T 細胞が存在することを明らかにした。

日本人の HLA-DR4 は、DNA レベルで少なくとも 5 種類のサブタイプに分けられる。このうち DRB1*0405 と DRB1*0406 は、いずれもペプチド収容溝に面している DR 鎖の第 37 番(Y S ; DRB1*0405 は Tyr であり DRB1*0406 は Ser であることを示す。)、第 57 番(S D)、第 74 番(A E)および第 86 番(G V)のアミノ酸残基が異なるだけである(図 1 B)。DRB1*0406 は、インスリン自己免疫症候群(IAS, 平田病)に感受性を示すが、慢性関節リウマチ(RA)には感受性を示さない。いっぽう DRB1*0405 は、RA に感受性を示すが IAS には感受性を示さない^{17, 18)}。

筆者ら⁶⁾は、DRB1*0405 分子あるいは DRB1*0406 分子に結合するペプチドは、共に非常に類似した特徴を有しているが微妙な違いがあることを明らかにした。つまり、図 3 A に示すように、ペプチドは 10 数個のアミノ酸からなっており、このうちの 3 個のアミノ酸が DR 分子への結合に重要であり、これらの

アミノ酸の間には 2 個および 1 個のアミノ酸が介在していた。つまり、N 末端側より第 1 番目の DR 結合性アミノ酸残基の位置を position-1(P1)として、ペプチド上の各残基の位置を C 末端方向に番号をつけて表すと、P1, P4 および P6 が DR 分子への結合に重要なアンカ残基となっていた。P1 はグリシン以外の疎水性とりわけ芳香族アミノ酸である場合に強い DR 結合性が認められた。P4 は塩基性アミノ酸の場合は結合が認められず、その他のアミノ酸では結合が認められた。P6 としては 2~3 種類のアミノ酸を除けば結合が認められた。著者らは DRB1*0406 が IAS への感受性を決定するモチーフの 1 つとして、DRB1*0406 はインスリン由来するペプチドを結合し、これを自己反応性 T 細胞に提示している可能性を考えた。この仮説にもとづけば、IAS 感受性の DRB1*0406 に親和性を示し、IAS 非感受性の DRB1*0405 には親和性を示さないペプチドの特徴が問題となる。著者らの基礎研究によれば、このようなペプチドは P6 にグルタミンあるいはセリンを有していることになる。

そこで筆者らはインスリン分子中に DRB1*0406 に高い、また DRB1*0405 に低い親和性を示すペプチドをさがした。図 4 A に示すようにインスリン分子は鎖と鎖からなり、その間には 2 箇所においてシステイン残基間に S-S 結合が存在する。鎖の第 10、13 および 15 番アミノ酸残基には、Ile-Leu-Gln のモチーフが存在する。このモチーフは先の DRB1*0406 結合モチーフに合致し、特に第 3DR アンカにグルタミンが位置するために DRB1*0405 に比べて

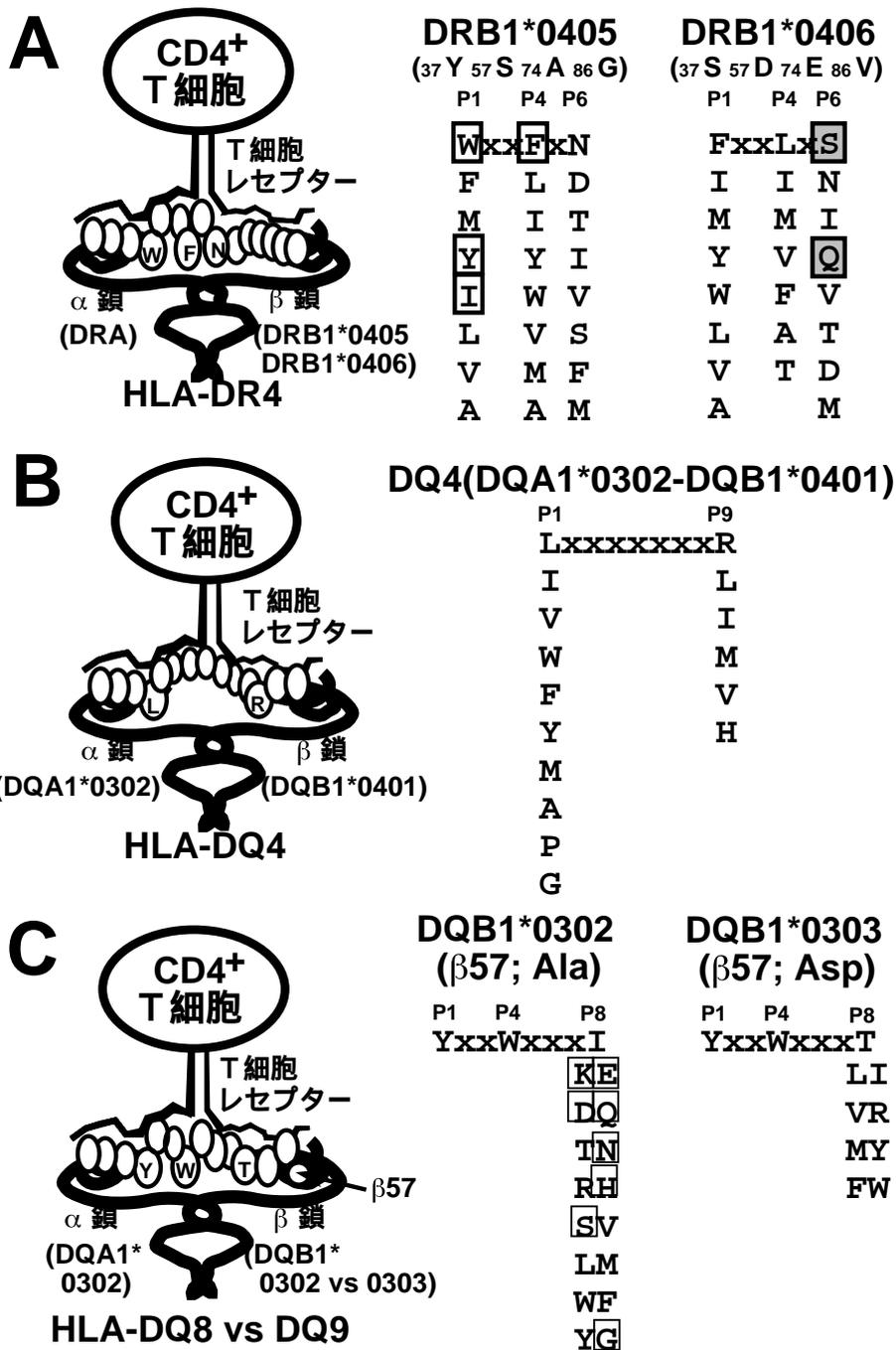


図3 著者が明らかにしたHLA-II分子に結合性を示すペプチドの構造モチーフ (文献6-8より)

A; DRB1*0405あるいはDRB1*0406分子に結合するペプチドのモチーフの比較. P1-9は抗原ペプチド上で最もN末端側にある第1DRアンカー残基の位置をposition 1 (P1)としてC末端方向に各アミノ酸残基に番号をつけたもので、それぞれのDRアンカー残基の相対的な位置をあらわす。HLA-II分子への結合に重要なアミノ酸 (アンカー残基) をアルファベットの1文字表示で示し、不特定の介在アミノ酸をXで示した。上位に示すアミノ酸ほどHLA-II分子への結合親和性は大きい。四角で囲んだアミノ酸は、二つのDRB1分子に対する結合親和性が大きく異なるものを示す。B; DQ4(DQA1*0302-DQB1*0401)に結合するペプチドの構造モチーフを示す。C; IDDM感受性DQ8(DQA1*0302-DQB1*0302, DQb57; Ala)あるいはIDDM非感受性DQ9(DQA1*0302-DQB1*0303, DQb57; Asp)分子に結合するペプチドのP8アンカー残基に許容されるアミノ酸の比較。DQ8でのみ許容されるアミノ酸を四角で囲んだ。

DRB1*0406 に対する親和性が高いと考えられた。そこで上記の肽-7を含むインスリン鎖の第 8~17 番アミノ酸残基にわたるペプチドを合成し、このペプチドが実際に DRB1*0405 に比べ DRB1*0406 に高い親和性を示すことを証明した。さらに DRB1*0406 陽性の健康人から樹立した、インスリンに特異的な自己反応性 T 細胞株が、上記のペプチドに強く反応することを明らかにした。(図 4B)

興味のあることに、このペプチドの第 1DR アカ-と考えられる Ile- 10 の両側にはシステイン (Cys)- 6 および Cys- 11 が存在し、この間に S-S 結合が生じ鎖内にループが形成される。IAS の約半数が SH 基により還元作用を有する薬剤の服用中に発病していること(17)を考え合わせると、上記の S-S 結合の還元が薬剤により促進されインスリン分子の鎖と鎖が解離し、さらに鎖内のループ構造がほどけて直線化されると推定される。その結果 DR 肽-7が露出し DRB1*0406 分子とインスリン鎖ペプチドが結合して、自己反応性 T 細胞を活性化しているのではないかと仮説が成り立つ。

この仮説にもとづけば、インスリン鎖上の自己反応性 T 細胞エピトープは通常は産生されないか、産生されてもごく少量であり、抗原提示細胞の表面での MHC-ペプチド複合体の密度は T 細胞トランスを誘導するには不足しており、また末梢で T 細胞を活性化するにも至らないと考えられる。つまり、免疫系から無視された(免疫学的クランプ)存在と考えられる。しかし還元状態では、その密度が増加し

末梢において T 細胞を活性化すると考えられる。つまり、自己抗原ペプチドは限りなく非自己に近い潜在的自己ペプチド (cryptic self-peptide) であると言える。またこのインスリン自己反応性 T 細胞は、B 細胞による抗インスリン自己抗体の産生を促進する Th2 細胞であろうと推測される。

今後、DRB1*0406 陽性の健康人と IAS 患者で、インスリン自己反応性 T 細胞および B 細胞の性格および頻度を比較することは重要な研究テーマである。

慢性関節リウマチ (RA) における自己抗原ペプチドの同定への試み

RA が自己免疫疾患であるのかどうかについては異論も多いが、自己免疫現象を伴っており、これが病態を修飾していることは確からしい¹⁰⁾。著者らは日本人において RA 感受性を示す DRB1*0405-DQ4(DQA1*0302-DQB1*0401)結合性ペプチドの構造肽-7を手がかりとして、RA における自己抗原ペプチドの同定を試みているので紹介する。RA 感受性の DRB1*0405 に結合するが、RA 非感受性の DRB1*0406 には結合しないペプチドは、第 1 番目の DR 結合性アミノ酸(P1)としてトリプトファン、第 2 番目の DR 結合性アミノ酸として P4 にフェニルアラニン、トリプトファンあるいはロイシンを有していた。ヒトの RA 患者の罹患関節滑膜中には、ヒト型コラーゲンを特異的に認識する T 細胞が、存在することが知られている¹⁹⁾。著者らは、上記の特徴を有するシーケンスを、ヒト型コラーゲン中に 6 種類同定し、このようなペプチドを合

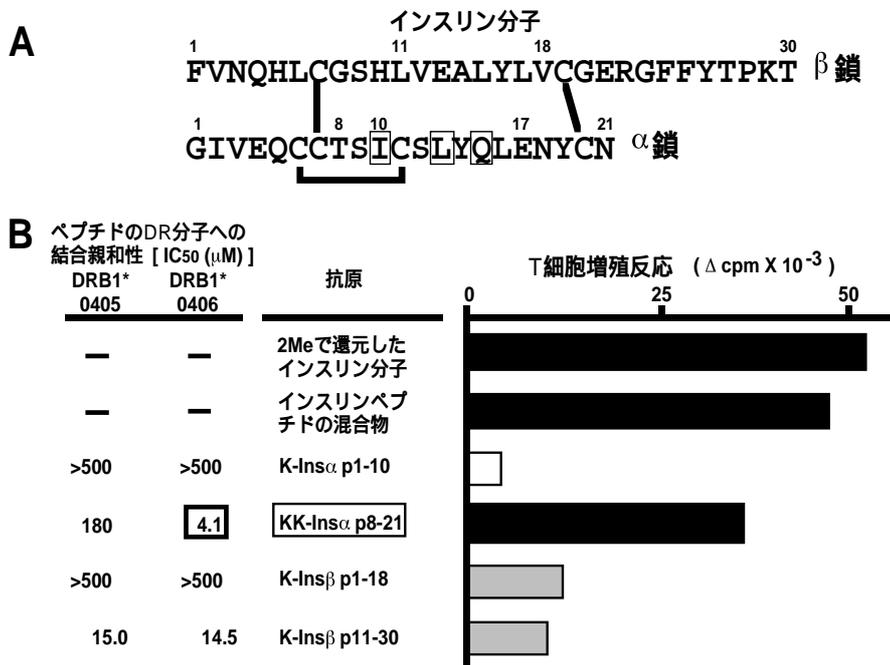


図 4 インスリン分子の構造(A)およびインスリンペプチドのDR分子への結合親和性ならびにインスリン自己反応性T細胞に対する抗原性(B). (文献6より) (A) インスリン分子中の黒い実線はシステイン残基間のジスルフィド結合を示す。(B) --I--L--Q--モチーフを有するインスリン α 鎖の第8~21アミノ酸残基に由来するペプチドはHLA-DRB1*0406分子に高親和性を示しHLA-DRB1*0406ヘテロ接合の健康なドナーより樹立したインスリン自己反応性T細胞を活性化したが、DRB1*0405には低親和性しか示さなかった。IC₅₀値は小さいほどDR分子への結合親和性は高いことを意味する。対照として用いた他のインスリンに由来するペプチドの自己抗原性はないか小さかった。ペプチドのN末端には可溶性を増すためにリジン(K)を1~2個付加してある。

成して DRB1*0405 に親和性を示すものを 3 種類確認した。これらのペプチドは、RA 非感受性の DRB1*0406 にもほぼ同程度の親和性で結合した⁷⁾。

DRB1*0405 遺伝子は、DQ4(DQA1*0302 - DQB1*0401) 遺伝子とほぼ完全な連鎖不平衡にあり、これらの遺伝子は常にペプチドをなして子孫に遺伝する。したがって RA 患者集団では、DQ4 の頻度も増加しており、DQ4 分子が RA の病因に関わっている可能性も十分に考えられる。そこで著者らは、DQ4 分子に結合するペプチドの構造モチーフの決定を行った⁷⁾。このために DQ4 分子を精製し、ファジリングペプチドライブラリより DQ4 に高親和性を示すペプチドを同定した。DQ4 結合性ペプチドモチーフは、P1 および P9 に出現し、DR モチーフと異なり DQ アンカーには Gly、Pro あるいは Arg が許容されることを明らかにした(図 3 B)。ヒト型コラーゲンには、このようなモチーフを有するシークエンスが 94 種類も同定された。そのうちの 27 種類を合成して、23 種類において低いし中等度の DQ4 結合親和性を示すことが示された。

型コラーゲンは、非常にユニークな構造をもっている。つまり、3 アミノ酸残基ごとに Gly が出現し、Gly の直前には Arg あるいは Pro が位置することが多い。DRB1*0405 あるいは DQB1*0406 分子に結合するペプチドは、アンカー残基として Gly および Pro を許容せず、Arg も第 3 DR アンカー(P6)として中等度の親和性を示すにすぎない。一方、DQ4 結合性ペプチドは、第 1 アンカー(P1)として Gly および Pro が低

い親和性しか示さないが許容され、さらに Arg は第 2 アンカー(P9)として最も強い DQ4 親和性を示す。このため型コラーゲン分子中には、DR4 結合性モチーフを有するペプチドよりも、DQ4 結合性モチーフを有するペプチドの頻度が高いと考えられる。

今後、これらのペプチドが RA 患者の T 細胞に自己免疫応答を誘導するか否かを検討し、さらに発症早期に自己反応性 T 細胞を刺激するペプチドを同定する必要がある。

白人集団には DRB1*0405 はほとんど存在しないので、白人で RA が DRB1*0405 と相関を示さないのは当然である。白人では、DRB1*0405 と構造のよく似た DRB1*0401 が RA 感受性を示す。いっぽう日本人集団には DRB1*0401 も存在するが、RA との相関は DRB1*0405 に比べるとはるかに低い。ここでも日本人と白人の RA に微妙な違いが認められ、今後の研究課題として注目される。

.IDDM に感受性を示す DQ 分子結合性ペプチドの構造モチーフの解析

白人においてインスリン依存型糖尿病(IDDM)の患者集団では、健康対照集団と比べて、HLA-DQ 鎖の第 57 残基にアラニン酸以外のアミノ酸を有する DQ 対立遺伝子が陽性のヒトの頻度が著明に増加している¹⁰⁾。さらに IDDM の動物モデルと考えられている NOD マウスでは、このマウスにユニークな MHC-1A g 7 に関して結合であることが、IDDM 発症の重要な要因となっていることが明らかにされている。つまり、NOD マウスに 1-A g 7 以外

の MHC- 遺伝子を導入すると膵島炎ならびに糖尿病の発症が抑制される²⁰⁾。この I-A g 7 も他の I-A 分子と異なり、鎖の第 57 残基がアスパラギン酸ではない。

そこで著者らは、白人で IDDM 感受性を示す HLA-DQ8(DQA1*0302-DQB1*0302, 57: Ala) と DQ 57 のみが異なる DQ9(DQA1*0302-DQB1*0303, 57: Asp) を選んで、両者の間で結合ペプチドの構造がどのように異なるのか解析を行った⁸⁾。まず DQ8 分子を精製し、先に述べたファージランダムペプチドライブラリーを利用して、DQ8 および DQ9 に等しく高親和性を示すペプチド (KLPDYVLWSSSTVVGLGAAGA) を同定した。さらに、ペプチド上の各アミノ酸残基を他のアミノ酸に置換して、その DQ8、DQ9 分子への結合親和性を調べることにより、両 DQ 分子ともに下線で示した Y(P1)、W(P4) および T(P8) が DQ アンカー残基として重要であることが明らかとなった。DQ 57 残基は、結合ペプチドの C 末端側に近い位置に存在するために (図 1 B)、先のペプチドの最も C 末端側のアンカー残基である P8 が、DQ 57 残基の多型の影響を受けやすいと考えられた。そこで P8 の Thr のみを、他の 19 種類のアミノ酸に置換したアタグペプチドを合成し、その DQ 結合親和性を DQ8 と DQ9 分子との間で比較検討した。その結果、図 3 C に示すように DQ8 分子の方がより多くのアタグペプチドを結合した。特に P8 に親水性アミノ酸が位置すると、ペプチドは IDDM 感受性の DQ8 に高親和性を示したが、DQ9 には結合しなかった。つまり

DQ 57 の Asp Ala 多型は、結合ペプチドの構造に大きな差を生み出すことが証明された。

NOD マウスにおいて膵島炎を誘導する自己抗原としてグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD65) が同定されている¹³⁾。さらに白人の IDDM 患者では、GAD65 p254-269 ペプチド (ARFKMFP EVKEKGMAA) に自己反応性を示す T 細胞の存在が知られている¹⁴⁾。またこのペプチドと類似性の高いペプチド P2-Cp32-47 (LKVKILPEVKEKHEFL) がコクサッキーウイルス由来の蛋白中に同定されており、マウスではこのペプチドに反応する T 細胞が、GAD ペプチドにも交差反応性を示すことが証明されている。従来よりコクサッキーウイルスの先行感染に引き続いて IDDM が発症するのではないかと疫学的観察が報告されており、この観察と上記の現象とはつじつまがあう。

そこで著者らは、これらの GAD65p254-269 ペプチドとコクサッキーウイルス P2-Cp32-47 ペプチドと DQ8 および DQ9 分子との結合親和性を測定した。その結果、2 つのペプチドは共に IDDM 感受性の DQ8 分子に弱い親和性を示したが、IDDM 非感受性の DQ9 分子には、ほとんど結合しなかった。このような結果より、DQ8・GAD65p254-269 ペプチド複合体の発現量は低く、トランスが成立しにくいと考えられる。そして、DQ8、GAD ペプチドあるいは B7、B70 などの costimulatory molecule の発現量が何らかの要因で増加した際に、これが自己反応性 T 細胞を活性化する可能性が考えられる。

著者らは同様の観察を、IDDM を自然発症する NOD マウスに特異的な MHC-II 分子である I-A g 7 結合性ペプチドについても得ている⁹⁾。他の研究者によりヒトの DQ 57 残基の多型がペプチドの結合および T 細胞による認識に影響を及ぼすこと、ならびに NOD マウスの I-A g 7 はペプチド結合特性が低いことについても報告されている。

いっぽう日本人で IDDM 感受性を示すのは DRB1*0405-DQ4 Ⅱ型タイプであるが、DQ4 の 57 は白人では非感受性を示す Asp であり、DRB1*0405 の 57 が Asp 以外のアミノ酸 (Ser) となっている。そもそも日本人では、白人で IDDM 感受性を示す HLA-DQ 対立遺伝子の頻度が非常に低く、これが日本人で IDDM の発症頻度が低い理由ではないかと考えられている。ここでも日本人の特殊性が現れている。我々は日本人の IDDM 患者 6 名を対象として GAD 自己反応性 T 細胞クローンを 7 種類樹立し、T 細胞エピトープが、白人の IDDM や NOD マウスで同定されたものとは全く異なる 4 箇所位置すること、ならびに抗原提示に関わる分子は HLA-DR あるいは DP 分子であり DQ の関与を認めないことを明らかにした。さらに疾患感受性を示す DR53 拘束性 T 細胞クローンの重要性を示し、これが GAD65 蛋白にも反応すると共に、Fas 非依存性に細胞傷害性を発現することを明らかにした²¹⁾ (表 2)。今後、白人および日本人において、GAD をはじめとする種々の自己抗原ペプチドに自己反応性を示す T 細胞の頻度、出現時期、免疫応答の性格を明らかにし、比較すること

は重要な研究課題である。

乳幼児発症重症筋無力症と HLA

日本人における MG の発症年齢の分布は、3 歳以下に最初のそして最大のピークがあり、これら乳幼児発症 MG は罹患筋肉が眼周囲の筋肉に限局し、比較的予後が良好という特徴がある。さらに 30 歳代にも第 2 の発症のピークがあり、その症状は全身の筋肉に病変が波及する全身型が多い。このように日本人における MG の発症年齢の分布は、二峰性の分布を示している。それに対して欧米白人では、成人で一峰性のピークのみを認め、その症状は全身型 MG が多い。白人の全身型 MG では、HLA-DR3 および HLA-B8 との相関の報告(患者群 vs 健常群, 41.2%vs28%)がある¹⁶⁾。

一方、日本人の MG では、HLA-B44 や全身型と DR8、眼筋型と DR9、また 30 歳以下で発症した女性患者と DPB1*0201、DR9、DR53 との相関が報告されている。Matsuki らは、乳幼児発症(3 歳以下)MG 患者については HLA-DRB1*0901-DQ9(DQA1*0301-DQB1*0303)、DRB1*1302-DQ6(DQA1*0102-DQB1*0604) Ⅱ型タイプおよびその H2I 接合体との強い相関があり、健康対照群と比較したその頻度と相対危険度はそれぞれ 86%vs27%、R.R.=16.4、58%vs16%、R.R.=7.1、51%vs3%、R.R.=37.4 であることを報告した²²⁾。これらはアジア人に頻度の高いⅡ型タイプで、この病態もアジア人と白人の HLA 遺伝子の違いに基づき、アジア人にエピソードなものである可能性が考えられる。

表2. IDDM患者から樹立されたGAD65自己反応性T細胞クローンの特徴(文献21より)

患者	HLA-DRB1*	拘束分子	エピトープ	リコンビナト GADに対する 反応	IFN γ -4	細胞傷害性	抗GAD抗体価 ^a
YK ^b	0101/0701	DR1 (DRB1*0101)	p417-429	あり	388	あり	24
MK	0301/0407	DR53 (DRB4*0103)	p116-126	あり	45	あり	43
SA	0405/0802	DR53 (DRB4*0103)	p116-127	あり	51	あり	168
		DR8 (DRB1*0802)	p200-217	なし	23	NT	
NT ^c	0901/0901	DR9 (DRB1*0901)	p202-216	なし	51	NT	25
SY	0901/0901	DP2 (DPA1*01-DPB1*0201)	p368-388	なし	219	NT	95
MS ^d	0405/0803	DP2 (DPA1*0201-DPB1*0201)	p368-388	NT	NT	NT	6

^a 通常は5 U/ml以下である。 ^b 慢性甲状腺炎を合併。

^c 9-11才時に甲状腺機能亢進症を発症。 ^d 祖母が糖尿病に罹患。 NT: not tested

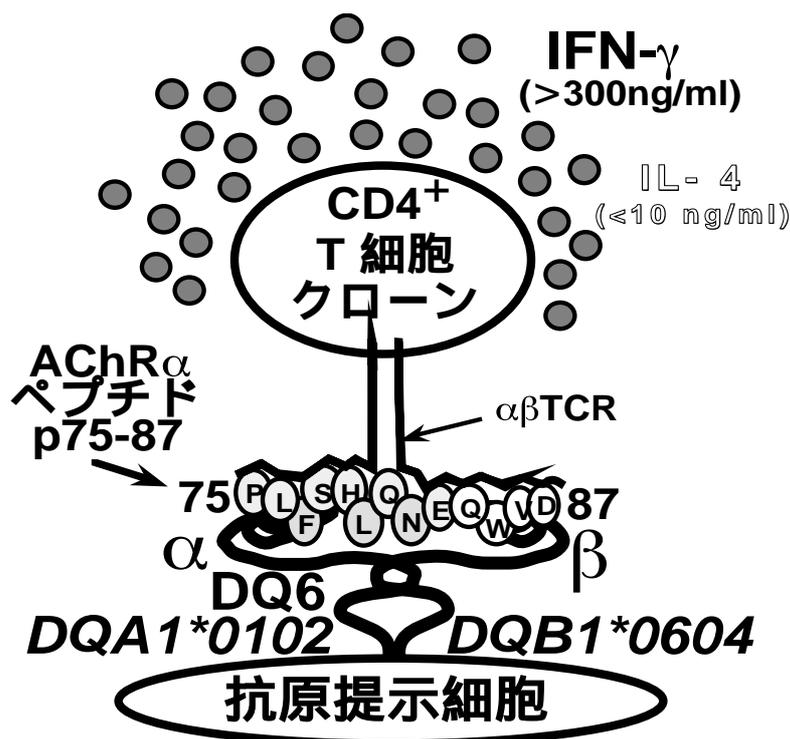


図5.

日本人の乳幼児発症重症筋無力症患者より樹立したAChR自己反応性T細胞クローンの特徴(文献23より)
 疾患感受性の高いHLA-DRB1*0901-DQ9 / DRB1*1302-DQ6ヘテロ接合の患者の末梢血由来のT細胞クローンは、DQ6 (DQA1*0102-DQB1*0604)分子により提示されたAChRa鎖ペプチド p75-87に自己反応性を示した。ヒトのAChRa鎖には、第59~83アミノ酸残基に相当するペプチドをコードするP3Aエクソンのオルターナティブスプライシングにより、2種類のアイソフォームが存在する。我々が同定したAChRa鎖自己抗原ペプチドのコアエピトープのN末端側の大部分(p75-83, 図の斜線で示した部分)は、このエクソンP3Aによりコードされていた。T細胞は抗原刺激により大量のIFN γ を産生し、IL-4はほとんど産生しないTh-1様細胞であった。

教室の金井らは、乳幼児発症 MG 患者の末梢血リンパ球中に AChR に自己反応性を示す T 細胞を証明し、詳細に解析した²³⁾。まず MG 発症に関わる自己抗原と考えられている AChR 鎖のアミノ酸配列に基づいて、35 種のペプチドを合成した。これらの合成ペプチドを疾患感受性を示す HLA-

DRB1*0901-DQ9(DQA1*0301-DQB1*0303) および DRB1*1302-DQ6(DQA1*0102-DQB1*0604) の H2-DQ の H2DQ 結合域である乳幼児 MG 患者の末梢血単核細胞と共培養することにより、ペプチド特異的自己反応性 T 細胞株を樹立した。樹立した T 細胞クローンを活性化できる抗原ペプチドの中で最小の 7 アミノ酸ペプチドを AChR 鎖中に特定したところ、その N 末端側の 9 個のアミノ酸は alternative splicing をうける P3A exon によりコードされる AChR 鎖の第 75-87 アミノ酸残基にわたる連続的なものであった (図 5)。T 細胞クローンは HLA-DQ6 分子により抗原提示を受けており、さらにリコンビナント AChR 蛋白に対しても増殖反応を示した。したがって、この T 細胞が認識するペプチドは AChR 鎖を取り込んだ APC による自然なプロセッシングにより生じ、生体内でも T 細胞に提示される可能性が示された。

さらに T 細胞クローンは、大量の IFN- γ と少量の IL-4 を産生する Th1 細胞様の性質を有していた。これは、乳幼児 MG 患者血清中の抗 AChR 抗体の陽性率が成人発症 MG と比べて低く、臨床症状も眼筋に限定され、比較的に軽症であるという事実を裏付ける結果とも考えられた。我々が同定した HLA・自己ペプチド

複合体の特徴が、乳幼児 MG という特殊な病態の発症とどのような関係にあるのかについては、今後とも症例数を増やして検討する必要がある。

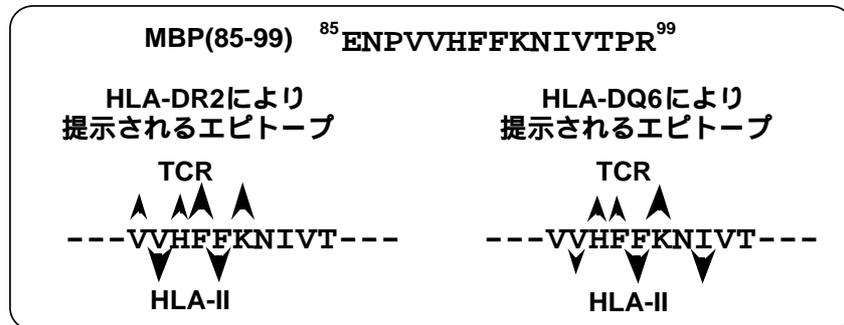
日本人における多発性硬化症 (MS) と HLA

欧米白人では従来より MS と DRB1*1501 (DR2 サブタイプ) との強い相関が明らかにされていた¹⁰⁾。さらに DRB1*1501-DRB5*0101-DQ6(DQA1*0103-DQB1*0601) を有する MS 患者の末梢血リンパ球中には、DRB1*1501 あるいは DQ6 分子により提示されたミリン塩基性蛋白 (MBP) あるいはプロリンリット蛋白 (PLP) に由来する自己抗原ペプチドに自己反応性を示す T 細胞の存在まで明らかになっている^{10,24)}。

また EBウイルスの DNAポリメラーゼに由来するペプチドならびに蛋白に対して MBP 自己反応性 T 細胞が交差反応することが明らかとなった。その他にもインフルエンザ、アデノあるいはヘルペスの各ウイルスならびに緑膿菌に由来するペプチドにも反応することがわかった²⁴⁾ (図 6)。この事実は、MS がこれらの微生物への感染の後に、微生物由来の抗原により活性化された T 細胞が、中枢神経系で MBP に交差反応を示したがために MS を発症するという、従来より提唱されていた分子擬態 (molecular mimicry) の仮説を支持するものである。

いっぽう、日本人では MS 患者集団で DRB1*1501 あるいは血清学的に同定された DR2r の頻度が有意に増加しているとする観察もあ

A ヒトのMBP自己反応性T細胞エピトープ



B mimic peptidesの探索に用いられたモチーフ

Set 1	Set 2	Set 3
---VHFFK---	---VHFFK---	---VHFFK---
INYYR	IIN YR	IFYY
LQ W	LLQ W	LYWW
AF V	AAF V	AMVV
M L	MM L	M LL
F I	I	II
Y A	A	
W M	M	

C MBP自己反応性T細胞に交差抗原性を示す非自己ペプチド

ペプチドが由来する蛋白質	ペプチドのアミノ酸配列
MBP(85-99)	⁸⁵ ENPVVHFFKNIIVTPR ⁹⁹
DR2拘束性T細胞に対する交差抗原性	
EBウイルス, DNAポリメラーゼ	TGGVYHFFVKKHVHES
A型インフルエンザウイルス, ヘマグルチニン	YRNLVWFIKKNTRYP
3型レオウイルス, シグマ2蛋白	MARAAFLFKTVGFGG
単純ヘルペスウイルス, DNAポリメラーゼ	GRRRLFVKAHVRES
DQ6拘束性T細胞に対する交差抗原性	
単純ヘルペスウイルス, UL15蛋白	FRQLVHFFVRDFAQLL
12型アデノウイルス, ORF	DFEVVTF LKDVLP EF
緑膿菌, フォスホマンノムターゼ	DRLLMLFAKDVS RN
ヒト7型パピローマウイルス, L2蛋白	IGGRVHFFFKDI SP IA

図6 多発性硬化症(MS)の患者より樹立されたMBP自己反応性T細胞が分子擬態(molecular mimicry)により交差反応性を示した微生物由来の非自己ペプチド (文献24より引用)

MS感受性のHLA-DR2(DRB1*1501)あるいはDQ6(DQA1*0103-DQB1*0601)分子によりMBP自己反応性T細胞に提示されるMBPペプチド上の各アミノ酸残基を、他のアミノ酸に置換したアナログに対するT細胞応答の解析などにより、各残基とHLA-IIあるいはTCRとの関係がAに示すように推定された。特にHLA-IIアンカー残基は置換しても抗原性は保存されるため、Bに示すようなモチーフを有するペプチドは、MBP自己反応性T細胞に認識される可能性があるとして推定された。そこでウイルスや細菌に由来する蛋白質のアミノ酸配列に関するデータベースの中から、このようなモチーフを有するペプチドが探索され合成された。このうちCに示すペプチドがMBP自己反応性T細胞に交差抗原性を示した。MBPペプチドと同一のアミノ酸を強調して示した。

るが、これには異論も多い。日本人の MS には 2 つの異なる臨床型があることが知られている。ひとつは、脳内に多発性に硬化巣が認められる西洋型の MS であり、もう一つは、脳内の硬化巣は比較的になく、脊髄や視神経の病巣を有するアジア型の MS である。著者らは、吉良らとの共同研究により、日本人でも西洋型 MS は、DRB1*1501-DRB5*0101 HLA-DQ1 と強い相関(患者群 vs 健康対照群、41.2% vs 14.2%、 $P < 0.002$)を示すが、アジア型 MS は、まったく相関を示さない(0% vs 14.2%)ことを明らかにした²⁵⁾。従来の報告は、2 つの MS 病型を区別せずに解析していたために、相関が観察されなかった可能性が考えられる。さらに著者らは DP 対立遺伝子を決定し、アジア型 MS と DPB1*0501 との正の相関(患者群 vs 健康対照群、88.6% vs 63.0%、 $P < 0.002$)を明らかにした²⁶⁾(表 3)。

アジア型 MS 患者では脳脊髄液中のガンマグロブリンおよび単核細胞が増加しており、また他の自己免疫疾患の合併も観察されている。したがって、アジア型 MS も自己免疫現象によりもたらされている可能性が考えられる。この観点より 2 つの MS 病型において、自己反応性 T 細胞が認識する自己抗原が同一であるのかどうかは、今後の重要な研究課題である。

自己免疫の標的となる MHC・ペプチド複合体の特徴に関する仮説

実験動物において、上記の自己免疫病と類似したモデルが確立されているが、やはり特定

の主要組織適合遺伝子複合体クラス II (MHC-II) 遺伝子を有する系統の動物のみが疾病感受性を示すことが多く、このような MHC-II により、自己反応性 T 細胞に提示される自己抗原ペプチドが同定されている。また自己免疫現象が、始まったごく早期には、ごく限られた自己抗原ペプチドに対してのみ免疫応答が観察されるが、時間と共につぎつぎに同じ自己抗原上の他の自己ペプチドに対する免疫寛容がくずれ、さらに別の自己抗原に対する自己免疫応答が誘導されて、自己免疫疾患を発症するにいたることが示されている^{13, 27)}。この現象は"epitope spreading"と呼ばれている。さらに動物に MHC-II に対する抗体を投与して抗原提示を抑制したり、疾患感受性のない MHC-II 遺伝子を発生工学の手法を用いて導入し強制的に発現させることにより²⁰⁾、疾病の発症を抑制することができる。

特定の自己免疫疾患に高感受性を示す HLA-II と自己抗原ペプチドの特徴は、両者の結合親和性にもとづいて 2 つに分けられる。まず自己抗原ペプチドが通常はほとんど産生されないが、環境あるいは遺伝要因により蛋白の構造が変化し、蛋白分解酵素によりペプチドへと分解されやすくなるなどの理由により、産生が増加するような場合を考えてみよう。このような HLA-II・自己抗原ペプチド複合体は通常は細胞表面での発現が低いために、免疫系は免疫寛容(トランス)を獲得するには至らず潜在的に自己反応性を示す T 細胞が存在する。しかし、たとえこの複合体に自己反応性を示す T 細胞が末梢において、この

表3 日本人における2種類の多発性硬化症(MS)の臨床型とHLAクラスII対立遺伝子との相関(文献26より)

HLA 対立遺伝子	HLAの抗原頻度		
	視神経脊髄型 MS患者 (n=40)	中枢神経型 MS患者 (n=46)	健康対照群 (n=113)
DR2(DRB1*1501) - DR51(DRB5*0101)	7.5%*	37.0%**	14.2%
	視神経脊髄型 MS患者 (n=44)	中枢神経型 MS患者 (n=46)	健康対照群 (n=92)
DP5 (DPB1*0501)	88.6%**	71.7%	63.0%

* 2種類のMS患者間の差は、p値を補正した後にも有意である (p c<0.05)。

** MS患者と健康対照群との間の差は、p値を補正した後にも有意である (p c<0.05)。

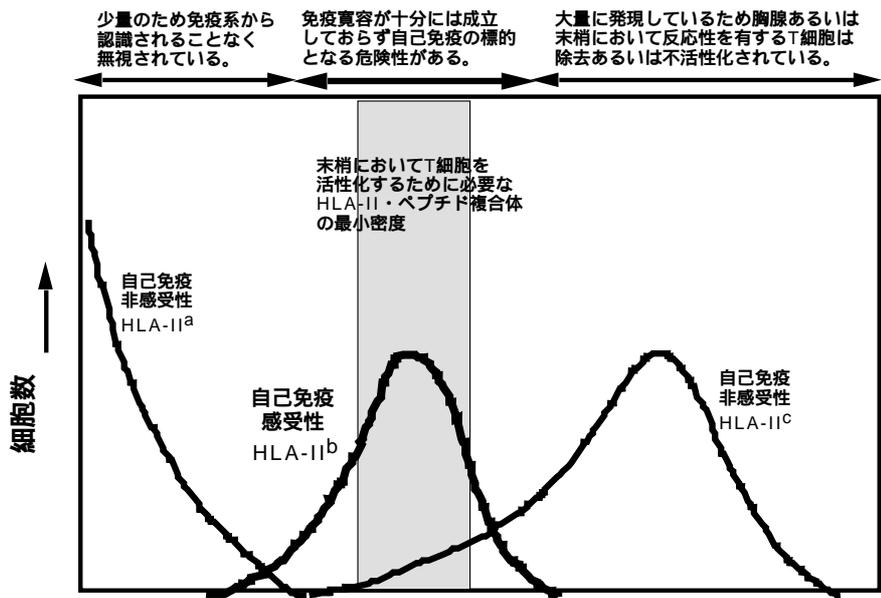
HLA-II・自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ 複合体に遭遇しても、発現密度が低いために活性化されることはない。つまり、このような HLA-II・自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ 複合体は免疫系からまったく無視されている（免疫学的 $\text{f}^{\circ}\text{f}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ ）。しかし、 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ の産生が高まると HLA-II・自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ 複合体の密度も高まり、これまで眠っていた自己反応性 T 細胞が活性化されると考えられる。このような自己 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ は限りなく非自己 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ に近く、これに高親和性を示す HLA-II が効率よく自己反応性 T 細胞を活性化すると考えられる。先述した IAS と HLA-DRB1*0406 との相関がこのような例であろう。

いっぽう多くの自己免疫疾患は、下記の範疇に属すると考えられる。それは HLA-II が自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ に対して弱い親和性を示す場合である。この場合、通常の状態では HLA-II・自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ 複合体の細胞表面における密度は、 CD4^+ T 細胞に $\text{f}^{\circ}\text{f}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ を誘導するほど高くはなく、上述した場合のように T 細胞から無視されるほど低くはない(図 7)。さらにこのような HLA-II・ $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ 複合体は、通常は末梢において T 細胞を活性化できるだけの十分な密度には達していない。しかし、サイトカイン等による HLA-II あるいは自己抗原蛋白の発現の増加、T 細胞の活性化において costimulatory signals を与える CD80、CD86 などの分子の発現の増加あるいは細胞間の接着を高める接着分子の発現増加などにとともに、自己反応性 T 細胞を活性化するようになると考えられる。あるいは自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$

$\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ に分子擬態(molecular mimicry)を示す非自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ への大量暴露も、HLA-II・自己抗原 $\text{p}^{\circ}\text{p}^{\circ}\text{f}^{\circ}$ 複合体の発現増加と同様の効果をもたらすと考えられる(表 4)。

おわりに

どの人種においても臨床所見がよく似た自己免疫疾患が存在し、いずれの人種においても特定の HLA 対立遺伝子が疾患感受性と強い相関を示すことは興味深い。さらに、これらの自己免疫疾患の中には各人種に特有の HLA 対立遺伝子が感受性を示し、人種に特有の臨床所見を呈するものがあることも事実である。また逆に、人種に共通した疾患感受性 HLA 対立遺伝子が存在し、人種による遺伝子頻度の違いが、人種間における疾患の発生頻度の違いをもたらしていると考えられる場合があることも知られている。さらに、これらの疾患感受性 HLA 対立遺伝子の多くが人類集団中で決して稀なものではなく、多くの場合頻度の高いものである点も注目に値する。この現象は、おそらくこれらの HLA 対立遺伝子が、生命を脅かす微生物などの非自己を免疫応答により排除して、個体を生殖可能な年齢まで生存させることに関して有利であるが、生殖年齢を過ぎた中年以降に自己免疫疾患を発症しやすいリスクも同時に背負った遺伝子であると説明されはしないであろうか。最後にもう一度、日本人を含めた $\text{A}^{\circ}\text{A}^{\circ}$ 人には、他には見られない自己免疫疾患やその亜型が存在し、その遺伝要因として $\text{A}^{\circ}\text{A}^{\circ}$ 人に $\text{E}^{\circ}\text{E}^{\circ}$ な HLA 対立遺伝子が少なからず関与している



小 ← 細胞表面でのHLA-II・ペプチド複合体の発現密度 → 大
 図7. 自己免疫現象の標的となりやすいHLA-II・ペプチド複合体の細胞表面での密度に関する特徴

今ここにある自己ペプチドに対する結合親和性の異なる3種類のHLAクラスII分子(HLA-II)、HLA-II^a, ^b および^cを考える。HLA-II^cは自己ペプチドに対する親和性が大きいため、細胞表面にHLA-II・ペプチド複合体が大量に発現しており、胸腺における自己反応性T細胞の除去(negative selection あるいはクローン欠失)あるいは末梢におけるアナジの誘導により免疫寛容がよく成立している。

いっぽうHLA-II^aは自己ペプチドへの親和性が非常に低く、これに対して免疫寛容は成立していないが、細胞表面での密度が低いため末梢において自己反応性T細胞を活性化するには至らない。HLA-II^bと自己ペプチドの複合体に対しては、免疫寛容は成立しておらず自己反応性T細胞は残存しうる。通常は末梢で自己反応性T細胞を活性化するために十分な密度のHLA-II・ペプチド複合体は発現していないが、種々のサイトカインなどの刺激によりHLA-II、自己ペプチドあるいはcostimulatory分子などの発現が高まると、自己反応性T細胞が活性化される危険性がある。

表4 潜在的自己(クリプティックセルフ)エピトープがT細胞を活性化する機序

要因	メカニズム
1. 抗原提示細胞の活性化 <ul style="list-style-type: none"> HLAクラスII分子の発現増強 接着分子(ICAM、LFA-1など)の発現増強 プロテアーゼの作用増強および異なるプロテアーゼの発現 	HLA-ペプチド複合体の密度の増加 T細胞活性化の閾値の低下 抗原のプロセッシングの増強と産生される自己ペプチドのレパートリーの変化
2. ユニークな抗原提示細胞による抗原提示 <ul style="list-style-type: none"> 抗原のプロセッシングに関わる基質特異性の異なるプロテアーゼの関与 抗体を介して抗原蛋白を取り込んだB細胞による抗原提示 ユニークな自己蛋白の発現 	産生される自己ペプチドのレパートリーの変化 HLA-ペプチド複合体の密度の増加 HLAに結合する自己ペプチドのレパートリーの変化
3. 細胞のストレスへの反応 <ul style="list-style-type: none"> 熱ショック蛋白の産生(PBP72/74など) 	産生される自己ペプチドのレパートリーの変化や、シャペロン機能を介したペプチドのHLAへの結合の促進
4. 抗原提示細胞への微生物の感染 <ul style="list-style-type: none"> ウイルス蛋白とウイルスにより産生が増加した自己蛋白の出現 ウイルスによる宿主細胞蛋白の産生阻害 ユニークな基質特異性を持つ微生物由来のプロテアーゼへの曝露 	微生物由来のペプチドが自己ペプチドに対して示す分子擬態と提示される自己ペプチドのレパートリーの変化 HLAに結合する自己ペプチドのレパートリーの変化 産生される自己ペプチドのレパートリーの変化
5. 自己抗原の構造変化 <ul style="list-style-type: none"> 強制的還元 加齢 その他の化学修飾 	ジスルフィド結合の解離と直鎖化による新たなペプチドの提示 コラーゲンの分子間架橋の減少による新たな直鎖ペプチドの増加 エピトープ構造の微細な変化

Lehmann PV et al: *Immunol Today* 14, 203, 1993) より改変

ことを強調しておきたい。その機序は、何と
しても我々アジア人みずからの手で明らかにし
たいものである。なお HLA-II の構造と機能
ならびに自己免疫疾患との関りあいについて
は、他にも詳細に記載したので参考にされた
い^{28, 29)}。

文献

1. Germain RN: MHC-dependent antigen processing and peptide presentation: providing ligands for T lymphocyte activation. **Cell** 1994, 76: 287-300
2. 笹月健彦 監訳 Janeway・Travers 「**免疫生物学**」免疫系の正常と病理、4. Tリンパ球による抗原認識、11.感染症以外の免疫反応、南江堂、東京、1995
3. Stern LJ, Jardetzy TS, Gorga JC, et al.: Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with an influenza virus peptide. **Nature** 1994, 368: 215-221
4. Hammer J, Gallazzi F, Bono E, et al.: Peptide binding specificity of HLA-DR4 molecules: Correlation with rheumatoid arthritis association. **J.Exp.Med.** 1995, 181: 1847-1855
5. Rammensee H-G, Friede T, & Stevanovic S.: MHC ligands and peptide motifs: first listing. **Immunogenet.** 1995, 41: 178-228
6. Matsushita S, Takahashi K, Motoki M, et al. Allele specificity of structural requirement for peptides bound to HLA-DRB1* 0405 and DRB1*0406 complexes: Implication for the HLA-associated susceptibility to methimazole-induced insulin autoimmune syndrome. **J. Exp. Med.** 1994, 180:873-883
7. Matsushita S, Nishi T, Yamaoka K, et al. : HLA-DQ-binding peptide motifs. I. Comparative binding analysis of type II collagen-derived peptides to DR and DQ molecules of rheumatoid arthritis-susceptible and non-susceptible haplotypes. **Int. Immunol.** 1996, 8: 757-764
8. Oiso M, Nishimura Y, Nishi T, et al.: Differential peptide binding to DQ8 and DQ9 differing only at b57. **Human Immunol.** 1997, 52: 47-53
9. Oiso M., Matsushita S., Nishi T., et al. Differential binding of peptides substituted at a putative C-terminal anchor residue to I-A^{G7}b⁵⁶His⁵⁷Ser and I-A^{G7}b⁵⁶Pro⁵⁷Asp. **Immunogenetics** 1998, 28:305-316
10. Tisch R., McDevitt H., Steinman L., et al : Reviews on autoimmunity (IDDM, MS, SLE, RA and genetics). **Cell** 1996, 85: 291-318
11. Ota K, Matsui M, Milford EL, et al. T-cell recognition of an immunodominant myelin basic protein epitope in multiple sclerosis. **Nature** 1990, 346:183-187
12. Ohashi T, Yamamura T, Inobe J, et al. Analysis of proteolipid protein (PLP)-specific T cells in multiple sclerosis: identification of PLP 95-116 as an HLA-DR2, w15-associated determinant. **Int Immunol** 1995, 7:1771-1778
13. Kaufman DL, Clare-Salzler M, Tian J, et al. Spontaneous loss of T-cell tolerance to glutamic acid decarboxylase in murine insulin-dependent diabetes. **Nature** 1993, 366: 69-72
14. Atkinson MA, Kaufman DL, Campbell L, et al. Response of peripheral blood mononuclear cells to glutamine decarboxylase in insulin-dependent diabetes. **Lancet** 1992, 339:458
15. Balasa B, Deng C, Lee J, et al. Interferon g (IFN-g) is necessary for the genesis of acetylcholine receptor-induced clinical experimental autoimmune myasthenia gravis in mice. **J.Exp.Med.** 1997, 186: 385-391

16. Engel AG, Myasthenia gravis and myasthenic syndromes. **Ann Neurol.** 1984, 16:519
17. 平田幸正、日本で発見された内科疾患；インスリン自己免疫症候群 **日本内科学会雑誌** 1994, 83: 1483-1490
18. Wakitani, S., Murata, N., Toda, Y., et al. The relationship between HLA-DRB1 alleles and disease subsets of rheumatoid arthritis in Japanese. **Brit.J.Rheumatol.** 1997, 36: 630-636
19. Londei M, Savill CM, Verhoef A, et al. Persistence of collagen type II-specific T-cell clones in the synovial membrane of a patient with rheumatoid arthritis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 1989, 86: 636-640
20. Miyazaki T, Uno M, Uehara M, et al.: Direct evidence for the contribution of the unique I-ANOD to the development of insulinitis in non-obese diabetic mice. **Nature** 1990, 345: 722-724
21. Tabata, H., Kanai, T., Yoshizumi, H., et al. : Characterization of self-glutamic acid decarboxylase 65-reactive CD4⁺ T cell clones established from Japanese patients with insulin dependent diabetes mellitus. **Human Immunol.** 1998,59, 549-560
22. Matsuki K, Juji T, Tokunaga K, et al. : HLA antigens in Japanese patients with myasthenia gravis. **J.Clin.Invest.** 1990, 86: 392-399
23. Kanai, T., Nomura, Y., Segawa, M., et al. Immuno-suppressive peptides for a human T cell clone autoreactive to a unique acetylcholine receptor a subunit peptide presented by the disease susceptible HLA-DQ6 in infant-onset myasthenia gravis. **Human Immunol.** 1997, 56:28-38
24. Wucherpfennig KW, and Strominger JL Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. **Cell** 1995, 80: 695-705
25. Kira J-I, Kanai T, Nishimura Y, et al.: Western vs. Asian types of multiple sclerosis: immunogenetically and clinically distinct disorders **Ann. Neurol.** 1996, 40: 569-574
26. Ito, H., Yamasaki, K., Kawano, Y., et al.: *HLA-DP* -associated susceptibility to opticospinal form of multiple sclerosis in the Japanese. **Tissue Antigens** 1998, 52: 179-182
27. Lehman, P. V., Forsthuber, T., Miller, A. et al.: Spreading of T-cell autoimmunity to cryptic determinants of an autoantigen. **Nature** 1992, 358:155-157
28. 西村泰治 「HLA と疾患感受性」平野俊夫 編 「免疫システムと疾患」羊土社、東京、1997, pp28-42
29. 西村泰治 カラー図説「MHC 分子の構造と機能」、特集 自己免疫病、**日本臨床** 1997, 55: 1318-1325