総 説

フラクタルカインと炎症性疾患

今井俊夫^{*1}, 西村美由希^{*1}, 南木敏宏^{*2}, 梅原久範^{*3}

Fractalkine and inflammatory diseases

Toshio IMAI^{*1}, Miyuki NISHIMURA^{*1}, Toshihiro NANKI^{*2} and Hisanori UMEHARA^{*3}^{*1}KAN Research Institute^{*2}Department of Medicine and Rheumatology, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University^{*3}Division of Hematology and Immunology, Department of Internal Medicine, Kanazawa Medical University

(Received April 6, 2005)

summary

The migration of leukocytes into inflamed peripheral tissues and lymphoid organs involves a cascade of molecular events finely regulated by cell adhesion molecules and chemokines. Fractalkine/CX3CL1 is a membrane-bound chemokine that functions not only as a chemoattractant but also as an adhesion molecule, and is expressed on endothelial cells activated by proinflammatory cytokines. The fractalkine receptor, CX3CR1, is expressed on cytotoxic effector lymphocytes including NK cells and cytotoxic effector T cells (T_{CE}), mature monocytes/macrophages, and mucosal dendritic cells, all of which play important roles in elimination of pathogens and cancer cells. Recently, accumulating evidence in both clinical studies and animal disease models has shown that fractalkine is also involved in the pathogenesis of various chronic inflammatory diseases, such as rheumatoid arthritis and atherosclerosis. This article reviews the unique functions of fractalkine and its pathophysiological roles in various clinical conditions.

Key words——cell migration; fractalkine/CX3CL1; cytotoxic lymphocytes; mucosal immunity; chronic inflammatory disease

抄 録

炎症や免疫反応は生体局所で生じることから明らかなように、免疫細胞の時空間的局在は緻密に制御されている。免疫細胞は細胞接着分子と細胞遊走因子を巧みに利用して、炎症部位やリンパ組織に到達する。フラクタルカイン/CX3CL1は、ケモカインと細胞接着分子の2つの活性を併せ持ち、活性化血管内皮細胞上に発現する細胞膜結合型ケモカインである。その受容体CX3CR1は、NK細胞やcytotoxic effector T細胞(T_{CE})などの細胞傷害性リンパ球と成熟マクロファージや粘膜樹状細胞などの病原体や異常な細胞の排除に深く関わる免疫細胞に発現している。最近の臨床病態やマウス疾患モデルでの研究から、フラクタルカインは、関節リウマチや粥状動脈硬化症などの慢性炎症疾患にも深く関与していることが示唆されている。本稿では、フラクタルカインの特徴的な機能と炎症疾患における役割について概説する。

はじめに

免疫細胞は、異物の進入や組織の損傷などの異常を監視するために、常に血管を通じて全身を移動している。また、組織中の抗原や免疫細胞は、リンパ管を経由してリンパ組織に集積され、効率よい免疫反応とその調節が可能となる。免疫応答は、外敵の排除には必須の機能である反面、自己への過剰な応答を開始すると様々な自己免疫疾患を誘発する。多

くの自己免疫疾患では、血管傷害や免疫細胞の浸潤が病巣部で認められ、免疫細胞の分化、増殖、細胞死を制御するメカニズムの解明とその疾患治療への応用が研究されている。さらに最近の研究から、細胞の生死に加え、生体局所への細胞局在、すなわち、免疫細胞の組織への浸潤・集積とリンパ組織や血流への移動も、免疫反応の強弱を決定する因子として重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。

免疫細胞の血管内皮細胞を経由する組織浸潤過程は、多くの接着分子と細胞遊走因子によって病態や状況に応じて巧みに制御されている^{1~4)} (図1a)。

^{*1}カン研究所^{*2}東京医科歯科大学大学院 膠原病・リウマチ内科学^{*3}金沢医科大学 血液免疫制御学

免疫細胞が組織に浸潤するには、まず血管内皮細胞という障壁を通過する必要がある。免疫細胞は、セレクチンなどの弱い結合の接着分子によりコロコロと転がるように内皮細胞との接触を繰り返し、血管内皮上に提示されたケモカインなどの遊走因子をサーチする (rolling)。分泌型のケモカインは、ヘパリン硫酸プロテオグリカンに結合して内皮細胞上に提示され、血中での濃度勾配を保っている。免疫細胞がケモカインを認識すると、活性化シグナルが伝達される (triggering)。続いて、インテグリンのコンフォメーション変化や集積が生じ、免疫細胞は、血管内皮細胞と強固に接着して細胞移動を停止する (firm adhesion)。その後、免疫細胞は、内皮細胞間隙に移動して内皮細胞のジャンクションを局所的に破壊して、内皮細胞間隙を経由して組織内に浸潤する (transmigration)。

免疫細胞の移動は、血管外浸出による炎症部位への集積に限らず、リンパ管を経由した樹状細胞や T 細胞の所属リンパ組織への移行、好中球や好酸球および T 細胞の腸管や気道の上皮細胞バリアーを経由した体腔外への浸出などでも見られる。これら組織への移入、滞留、移出は、遅滞なく整合性を持つて行なわれる必要がある。細胞の移動動態は、薬物の体内動態と同様のコンパートメントモデルが適応できると考えられる。

ケモカインは、このような免疫反応のダイナミクスを決定する機構で重要な役割をはたしている。フラクタルカインは活性化内皮細胞に発現する膜結合型ケモカインで、ケモカインとしての細胞遊走活性と接着分子としての機能をあわせもつユニークな分子である。本稿では、フラクタルカインの生物学的役割と炎症疾患への関与について概説する。

1. フラクタルカイン/CX3CL1 と CX3CR1 の特徴

フラクタルカインの構造と発現

フラクタルカインは、1997 年に EST データベースの検索により発見された膜結合型ケモカインである⁵⁾。約 50 種類あるケモカインは、N 末端の残基の配列により CC, CXC, CX3C, C サブファミリーに分類される⁶⁾。他のケモカインが分泌蛋白質であるのに対して、フラクタルカインと SR-PSOX/CXCL16 の 2 つは、膜蛋白質として産生される。フラクタルカインは、N 末側から、ケモカインドメイン、ムチンドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内ドメインという構造をとっている (図 2)。ムチン

ドメインは、約 29 nm の棒状の構造をしており、ケモカインドメインを細胞膜表面に提示する機能を果たしている⁷⁾。

フラクタルカインは、血管内皮細胞では、LPS, TNF- α , IL-1, IFN- γ , CD40L などの炎症性刺激で発現が誘導される。一方、IL-4 や IL-13 などの type 2 サイトカインは、TNF- α と IFN- γ による発現誘導を抑制する^{8,9)}。フラクタルカインは、樹状細胞、ニューロン、活性化アストロサイトでも発現する。また、膵臓 β 細胞、腎メサンギウム細胞、気道や尿細管および腸管上皮細胞でも、炎症性サイトカインによって発現が誘導される。その他、癌抑制遺伝子 p53 は、直接フラクタルカインのプロモーターに結合し発現を誘導することが報告されている¹⁰⁾。

膜結合型のフラクタルカインは、細胞外領域がメタロプロテアーゼにより切断 (シェディング) され分泌型となる。シェディングには、disintegrin-like metalloproteinase 10 (ADAM10) が恒常的に、TNF α -converting enzyme (TACE; ADAM17) が刺激時に働いている^{11,12)}。分泌型フラクタルカインは、NK 細胞、T 細胞、単球に対する細胞遊走活性を示す^{4,5,13)}。

フラクタルカインの受容体 CX3CR1 は、他のケモカインと同様に 7 回膜貫通 G 蛋白共役型受容体ファミリーに属する^{6,13)}。CX3CR1 は、単球、リンパ球、樹状細胞で発現するほか、ニューロン、ミクログリア、関節滑膜線維芽細胞などで発現している。ヒト CX3CR1 遺伝子には 6 番目の膜貫通部位にあるアミノ酸 294 番目の Val が Ile (I249) に、7 番目の膜貫通部位にあるアミノ酸 280 番目の Thr が Met (M280) に変異する 2 つの polymorphism が存在する。これらの変異は、後述のように心血管疾患や AIDS 発症のリスクと相関することが示されている^{14,15)}。

細胞接着分子としてのフラクタルカインと CX3CR1

われわれは、フラクタルカイン受容体 (CX3CR1) を同定し、膜結合型フラクタルカインと CX3CR1 の相互作用が、他の接着分子の力を借りずにその結合力だけで細胞接着をひき起こすことを明らかにした^{3,4,13)} (図 2)。CX3CR1 を発現する細胞は、インテグリンやセレクチンの接着活性に依存することなく膜結合型フラクタルカインへ接着する。フラクタ

図1 典型的ケモカインとフラクタルカインによる細胞浸潤
(a) 血流中の免疫細胞は、セレクトリンによるローリング、ケモカインによる活性化、インテグリンによる強固な接着を経て、内皮細胞間隙から組織に浸潤する。(b) フラクタルカインによる細胞浸潤は、フラクタルカインのみで血流中の免疫細胞の捕獲から接着までのステップを遂行できる。同時に、典型的なケモカインと同様にインテグリンの活性化を介した接着も誘導する。

図2 フラクタルカインによる多様な細胞接着
(a) 典型的なケモカインは、インテグリンを活性化して細胞接着を誘導する。(b) 膜結合型フラクタルカインは、CX3CR1との直接結合により細胞接着を成し得る。膜結合型フラクタルカインは、TACEやADAM10によりシェディングされる。(c) 膜結合型フラクタルカインは、インテグリンを活性化して細胞接着を相加的に増強する。

図3 ヒト末梢血におけるCX3CR1発現細胞の特性
(a) CX3CR1は、CD16⁺ NK細胞、 $\gamma\delta$ ⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞いずれの細胞においても、perforinやgranzyme B陽性のキラーリンパ球に選択的に発現する。(b) CD8⁺ T細胞では、CX3CR1⁺細胞分画のみに著明な細胞傷害活性が認められる。(c) 分泌型フラクタルカインは、perforinやgranzyme B陽性のキラーリンパ球を選択的に遊走させる。

図5 腸管での樹状細胞による抗原の捕獲
粘膜固有層の骨髄系樹状細胞は、CX3CR1依存性に腸管上皮細胞間隙に樹状突起を貫入して、腸管内腔に存在する細菌(抗原)を採取する。一方、パイエル板でのM細胞経由の細菌(抗原)採取は、CX3CR1に依存していない。

図4 フラクタルカインに応答するCX3CR1⁺細胞集団
フラクタルカインは、CD16⁺Gr1⁻の成熟単球とCCR7⁻CD27⁻CD28⁻の最終分化したエフェクター細胞のなかでperforin⁺granzyme B⁺の細胞傷害活性を有するcytotoxic effector T細胞(T_{CE})とNK細胞の細胞浸潤に関与する。

ルカイン-CX3CR1による接着は、フラクタルカインのケモカインドメインとCX3CR1の直接結合だけで細胞接着に必要な強度は十分であり、シグナル伝達はいらない¹³⁾。従来、ケモカインは、ケモカイン受容体を介してインテグリンを活性化し細胞接着を誘導すると考えられており、膜結合型フラクタルカインと7回膜貫通型CX3CR1が直接接着分子として機能し得ることは驚きであった。さらに、膜結合型フラクタルカインは、CX3CR1を介してインテグリンを活性化してICAM-1やフィブロネクチンへの接着を誘導し、細胞接着を相加的に増強する¹⁶⁾(図2)。ケモカイン刺激によるインテグリンを介した細胞接着は通常一過性であるが、フラクタルカイン-CX3CR1の接着は安定であり、接着の解除はメタロプロテアーゼによるシェディングによる

と考えられている¹⁷⁾.

生理的流速条件下でも、セレクチンやインテグリンや G 蛋白質に依存せず、フラクタルカインは単独であるいは VCAM-1 と相乗的に CX3CR1⁺ 細胞を捕獲し接着させることができる^{3,4,18)} (図 1b). 流速下での捕獲と接着には、CX3CR1 のアミノ酸 14 番目 Tyr の硫酸化が必須であり、この硫酸化によりフラクタルカインに対する結合親和性が 100 倍上昇する¹⁹⁾. 膜結合型フラクタルカインと CX3CR1 による接着は、従来の細胞浸潤において、セレクチン、ケモカイン、インテグリンが関与する 3 つの分子間相互作用が必要な複雑な反応を単独で行うシンプルな極めて効率の良い接着機構である.

2. フラクタルカイン-CX3CR1 系の各種免疫細胞での機能

キラー細胞の活性化と浸潤増幅機構

ケモカイン受容体の発現は、成熟段階やリンパ球のサブセットによる組織指向性と密接に関係している. Th1 細胞には CCR5 や CXCR3 が、Th2 には CCR4 が発現していることが知られている. メモリー T 細胞は、リンパ組織に移行する CCR7⁺ の central memory T 細胞 (T_{CM}) と末梢組織に浸潤してサイトカイン産生を行う CCR7⁻ の effector memory T 細胞 (T_{EM}) に細分される.

最近われわれは、新たに作製したモノクローナル抗体を用いてヒト末梢血リンパ球での CX3CR1 の発現を詳細に解析し、CX3CR1 が細胞傷害活性を持つキラーリンパ球に特異的に発現していることを明らかにした²⁰⁾ (図 3). CX3CR1 は、CD16⁺ NK 細胞の大部分と CD4⁺ T 細胞、CD8⁺ T 細胞、 $\gamma\delta$ ⁺ T 細胞の一部で発現しており、これら CX3CR1⁺ 細胞はキラー活性に関与する perforin や granzyme B を発現している細胞と一致していた. 末梢血 CD8⁺ T 細胞を CX3CR1 発現の有無でソーティングし細胞傷害活性を比較したところ、CX3CR1⁺ 細胞分画にのみ著明な細胞傷害活性が認められた. T 細胞では、CX3CR1 は CCR7⁻CD27⁻CD28⁻ の effector memory T 細胞でかつ細胞傷害活性を有する cytotoxic effector T 細胞 (T_{CE}) に発現していることが明らかとなった. 一方、分泌型フラクタルカインは、キラーリンパ球を選択的に遊走させ、内皮細胞上に発現した膜結合型フラクタルカインは、MIP-1 α や IL-8 など他の二次性ケモカインによるキラーリンパ球の浸潤を選択的に増強した²⁰⁾. した

がって、CX3CR1 は、ケモカイン受容体のなかでもエフェクターキラーリンパ球に特異的に発現するユニークな受容体であり、フラクタルカインは、血流中から選択的かつ効率よくキラーリンパ球を捕獲して速やかかつ選択的に炎症組織に浸潤させる門番 (ゲートキーパー) として機能していると考えられる.

フラクタルカインは、キラーリンパ球とりわけ NK 細胞の活性化を誘導する. 分泌型フラクタルカインは、NK 細胞からの perforin や granzyme などが含まれる細胞傷害性顆粒の放出を誘導する²¹⁾. また、膜結合型フラクタルカインを発現させた内皮細胞は、CX3CR1 依存性に NK 細胞との接着が増強し、NK 細胞による細胞傷害を受けやすくなる. したがって、フラクタルカインは、NK 細胞を活性化する因子として機能していると考えられる^{4,21)}. さらに、膜結合型フラクタルカインは、NK 細胞上の CX3CR1 を架橋することで、チロシンキナーゼおよび PI-3 キナーゼ依存性に IFN- γ の産生を誘導する²²⁾. 分泌型フラクタルカインではこのような効果は見られない. 活性化内皮細胞上のフラクタルカインに NK 細胞が接着し活性化された後、組織中で IFN- γ を産生することで、さらに内皮細胞でのフラクタルカインの発現が誘導され、NK 細胞自身や細胞傷害性 T 細胞の遊走を増強するというポジティブフィードバック機構として働くことが示唆される^{4,22)}.

成熟単球の恒常的組織浸潤

フラクタルカインは、単球の遊走やインテグリン非依存性の接着を誘導する. つい最近になって、フラクタルカインは、単球のなかでも特徴的な集団の接着および遊走を選択的に誘導することが示された^{23,24)} (図 4). ヒト単球は、大きく 2 つの集団、CD14^{lo}CD16⁺ と CD14⁺CD16⁻ に分類される. CD14^{lo}CD16⁺ 単球は、CX3CR1^{hi}CCR2⁻ であり、フラクタルカインに対して選択的に反応する. 一方、CD14⁺CD16⁻ 単球は、CX3CR1^{lo}CCR2⁺ であり、MCP-1 など炎症性ケモカインに対して選択的に反応する. マウスでも単球は、恒常的に末梢組織に浸潤する CX3CR1^{hi}CCR2⁻Gr1⁻ 常在性サブセットと、炎症組織にすみやかに浸潤して直接炎症反応に関与する短寿命の CX3CR1^{lo}CCR2⁺Gr1⁺ 炎症性サブセットの 2 つに大きく分類されることが報告された²³⁾. さらに、CX3CR1 ノックインマウスの解析

によって、CX3CR1は、常在性サブセットの恒常的な末梢組織への浸潤にかかわり、急性炎症部位への炎症性サブセットの組織浸潤には関与していないことが明らかとなった。一方、clodronate リポソームによって *in vivo* で単球を除去した後の単球の再増殖過程を調べた結果から、Gr1⁺Ly6C⁺の未熟な単球からGr1⁺Ly6C⁺のより成熟した単球へ分化することが示された²⁵⁾。これらの結果を考え合わせると、より成熟した単球はCX3CR1^{hi}で血液中での保持がよく恒常的に組織に浸潤し、未熟な単球はCX3CR1以外のCCR2などのケモカイン受容体を用いて急性炎症時に末梢組織へ速やかに移行すると考えられる。一方、関節リウマチなどの慢性炎症性疾患患者では、CD14^{lo}CD16⁺サブセットが血液中で増加し、これらが炎症性単球と呼ばれる場合がある。ヒトとマウスでは全く別の集団が炎症性単球と呼称されて混乱している。これは、マウスでは急性炎症時に動員される未熟な単球を炎症性として、ヒトでは慢性炎症時に増加する成熟した単球を炎症性として定義されているためであり、未熟単球と成熟単球に用語を統一すると考えやすい。後述のように、最近われわれは関節リウマチなどの慢性炎症時には、フラクタルカイン-CX3CR1系が病態形成に重要な役割を果たしていることを明らかにしている。

骨髄系粘膜樹状細胞による腸管抗原の捕獲

2000年に作製されたCX3CR1ノックアウトマウスでは、マクロファージや樹状細胞の浸潤や活性化には大きな影響がないとされていたが²⁶⁾、つい最近になって腸管の粘膜樹状細胞による抗原捕捉機能に重要な機能を果たしていることが明らかにされた²⁷⁾(図5)。CX3CR1ノックアウトマウスでは、小腸の粘膜固有層への骨髄系粘膜樹状細胞の浸潤に変化はないが、腸管上皮細胞間隙を貫いて樹状突起を進展し腸管内腔に存在する細菌を採取する機能が消失していた。興味深いことに、フラクタルカインの上皮細胞での発現は小腸終末部で強く、樹状突起が見られる部位および腸内細菌の密度が濃い部位と一致していた。CX3CR1ノックアウトマウスでは、常在大腸菌の粘膜固有層からの採取と腸管リンパ節への菌体輸送が特異的に完全に損なわれるが、パイエル板でのM細胞経由の採取には影響が見られない。病原性サルモネラ菌の場合にも、CX3CR1ノックアウトマウスでは、侵襲性や非侵襲性に関わらず粘膜樹状細胞への取り込みは顕著に減少しており、サ

ルモネラ菌の排除が抑制されている。

現在のところ、CX3CR1-フラクタルカインがどのようなメカニズムで、樹状突起の形成に関与しているかは不明である。CX3CR1からのシグナルにより樹状細胞でのZO-1などのタイトジャンクションに局在するタンパク質の発現が誘導され上皮細胞間隙への貫入を促進するのか²⁸⁾、フラクタルカインからのシグナルにより上皮細胞でのタイトジャンクションが破壊されるのか、いずれにしても今後の重要な課題である。

その他の機能

血小板にはCX3CR1が発現し、フラクタルカインは血小板の活性化や細胞外基質への接着をひき起こす²⁹⁾。フラクタルカインは、神経幹細胞、アストロサイト、神経細胞のアポトーシスを抑制することが報告されている³⁰⁾。フラクタルカインは、basic FGFと同様に皮膚微小血管由来内皮細胞の管腔形成を誘導し、血管新生作用があると報告されている³¹⁾。

3. フラクタルカインとCX3CR1の疾患との関わり

自己免疫疾患(関節リウマチなど)

フラクタルカインとCX3CR1は、関節リウマチ(RA)、炎症性腸疾患、ループス腎炎、多発性硬化症などの自己免疫疾患において、その発症や病態に関与していることが示唆されている³²⁾。

RA患者の関節滑液中には、分泌型フラクタルカインが増加しており、炎症細胞の活性化内皮細胞への接着や関節への浸潤あるいはサイトカイン産生に関与していると考えられる。われわれは、RA患者の末梢血では、CD4⁺およびCD8⁺T細胞におけるCX3CR1⁺perforin⁺のcytotoxic effector T細胞(T_{CE})が増加し、これらはIFN- γ 、TNF- α などType Iのサイトカインを強く産生することを見出した³³⁾。RA滑膜では、浸潤したT細胞の一部、マクロファージ、樹状細胞、滑膜繊維芽細胞などでCX3CR1が発現している。一方、フラクタルカインは血管内皮細胞に加え、滑膜繊維芽細胞やマクロファージでも発現が認められる。臨床症状との関係では、滑液中の単球によるフラクタルカインの発現と「朝のこわばり」、また滑液中のT細胞におけるCX3CR1の発現と「手指の腫脹」に相関があるとの報告がある。一方、RA患者の滑液には血管新生作用があり、その作用は抗フラクタルカイン抗体に

より消失することから、RA 滑膜の増生にフラクタルカインが関与していることが示唆される。

さらに最近われわれは、抗フラクタルカイン抗体投与によって、関節リウマチの動物モデル CIA (Collagen-Induced arthritis) の発症や臨床症状を改善し、滑膜への炎症細胞の浸潤と骨破壊を抑制できることを明らかにした³⁴⁾。CIA 滑膜組織では CX3CR1 はマクロファージと一部の CD4⁺ や CD8⁺ T 細胞で発現しており、CIA では正常マウスと比較して関節局所でのフラクタルカインの発現が上昇していた。しかしながら、血清中コラーゲン抗体価やコラーゲン刺激による脾臓 T 細胞からの IFN- γ 産生には影響は見られなかった。抗フラクタルカイン抗体投与により、蛍光標識脾臓マクロファージの炎症滑膜への浸潤が抑制されることから、成熟単球の滑膜組織への浸潤抑制が主な作用メカニズムと考えられる。

粥状動脈硬化症と虚血性心疾患

フラクタルカインと CX3CR1 は心臓疾患との関連も多数報告されている³²⁾。アテローム性動脈硬化症の病変部には、マクロファージ、T 細胞が多数浸潤している³⁵⁾。進行したヒト動脈硬化巣の血管でフラクタルカインの強い発現が認められ、浸潤したマクロファージ、泡沫細胞、平滑筋細胞においてもフラクタルカインの発現が認められる^{36,37)}。また、糖尿病の合併症および移植心の冠動脈傷害の場合にも、フラクタルカインの血管内膜での発現と CX3CR1⁺ 細胞の浸潤が報告されている³⁷⁾。CX3CR1 の 1 塩基多型 (SNP) の解析から、249 および 280 番目のアミノ酸に polymorphism が存在し、I249 あるいは M280 ハプロタイプでは冠動脈疾患の罹患率が低いとの興味深い報告もある¹⁵⁾。このメカニズムは、CX3CR1 とフラクタルカインとの結合親和性の低下により単球の血管内皮細胞への接着活性が低下するためと考えられている^{38,39)}。

動脈硬化症のモデルである ApoE ノックアウトマウスでは、病変部の平滑筋細胞でフラクタルカインが強く発現している。CX3CR1/ApoE ダブルノックアウトマウスでは、血管壁へのマクロファージの集積と動脈硬化巣が約 50% に顕著に減少する^{40,41)}。したがって、フラクタルカイン-CX3CR1 系は、動脈硬化巣へのマクロファージの集積を誘導して、発症に関与していると考えられる。

不安定プラークと CX3CR1 の関係も示唆されて

いる。アテローム性プラークの破裂は冠動脈血栓症を誘発する⁴²⁾。最近の研究から、キラーリンパ球による内皮細胞傷害が不安定プラークの破裂に関与することが示唆されている⁴³⁾。不安定プラークには、CD28⁻perforin⁺ の CD4⁺ T 細胞が選択的に浸潤しており、これら T 細胞は、マクロファージを活性化して IFN- γ を大量に産生するのみならず、HSP60 を認識して CRP で活性化された内皮細胞の傷害をひき起こす⁴⁴⁾。不安定狭心症患者の末梢血でも、perforin⁺CD4⁺ T 細胞が著しく増加する。これら T 細胞は、明らかに cytotoxic effector T 細胞 (T_{CE}) であり CX3CR1 を発現していると考えられる。CX3CR1 を介した細胞接着や細胞傷害活性により内皮細胞が破壊され、不安定プラークの破壊が生じる可能性が示唆される。

臓器移植片拒絶反応

臓器移植後の急性拒絶反応は、免疫細胞の移植臓器への顕著な浸潤や活性化と栄養血管の傷害により生じると考えられている。心臓移植患者の冠動脈において、血管傷害時にフラクタルカインの発現が認められる³⁷⁾。アロ心移植動物モデルでは、抗 CX3CR1 抗体が有意に拒絶を抑制し、CX3CR1 ノックアウトマウスではサイクロスポリン A との併用により NK 細胞や単球の浸潤と移植片の拒絶が抑制される^{45,46)}。また、CX3CR1 ノックアウトマウス単独では、移植片への NK 細胞の浸潤が抑制されており、CX3CR1 は、特に NK 細胞の浸潤に重要な役割を果たしていると考えられる。一方、移植腎の急性拒絶のリスクと、CX3CR1 の遺伝子型には相関が認められていない⁴⁷⁾。

癌と抗腫瘍効果

フラクタルカイン遺伝子を導入した Lewis lung carcinoma がん細胞株をマウスに移植すると、細胞傷害性 T リンパ球によるがん特異的防御免疫が誘導され、いわゆるがんワクチンとしての効果が認められる⁴⁸⁾。フラクタルカインを発現するがん細胞には CX3CR1 を発現する樹状細胞が誘引され接着する。その結果、樹状細胞の成熟と IL-12 の産生増強が起こり、T 細胞の分化が強く誘導されがん免疫が成立すると考えられる。さらに、樹状細胞、CD4⁺ T 細胞、CD8⁺ T 細胞のがん組織への浸潤が亢進し、細胞傷害性 T リンパ球依存性のがん免疫が強く発揮されるようになると考えられる。一方、

EL-4 リンパ腫モデルに対する抗がん作用は、NK 細胞のみに依存しており T 細胞は関与していない⁴⁹⁾。OVHM 卵巣腫瘍株の場合、フラクタルカインの発現により免疫細胞の浸潤は増加するが、血管新生も誘導され効果が見られないとの報告もある⁵⁰⁾。フラクタルカインは、がん抑制遺伝子 p53 の下流ターゲット遺伝子としても同定されており¹⁰⁾、異常な細胞で発現するようにプログラムされた内在性の危険シグナルとして機能している可能性がある。

最近、CX3CR1 は前立腺がんが発現し、フラクタルカインは骨髄内皮細胞と骨芽細胞で発現していることが報告された⁵¹⁾。生理的流速下での前立腺がん細胞の骨髄内皮細胞への接着は抗フラクタルカイン抗体で阻害される。骨芽細胞は分泌型フラクタルカインを産生し前立腺がん細胞の遊走を誘導する。さらに、フラクタルカインは、前立腺がん細胞において PI-3 キナーゼ/Akt/GSK3 β などの細胞生存に関わるシグナルを活性化することも示されている。このように、フラクタルカインの前立腺がん細胞の骨転移への関与が示唆される。

その他の疾患

腎炎患者の腎臓では、浸潤した NK 細胞、T 細胞、マクロファージに CX3CR1 の発現が認められる⁵²⁾。糸球体腎炎動物モデルでは、糸球体内皮細胞でフラクタルカインの発現が強く誘導され、CX3CR1 は糸球体に浸潤した炎症細胞に発現している。抗 CX3CR1 抗体投与により、炎症細胞の浸潤が抑制され腎機能が改善する⁵³⁾。AIDS 患者のリンパ節では、樹状細胞や形質細胞でフラクタルカインが過剰発現しており、末梢血中の CX3CR1 の発現率は、AIDS の進行度と相関する⁵⁴⁾。CX3CR1 I249-M280 のハプロタイプを持つ HIV 感染者では、AIDS の進行が早い¹⁴⁾。抗フラクタルカイン抗体には、抗腫瘍効果に影響を与えることなく急性移植片対宿主病による致死的な腸管傷害および ConA 誘導肝傷害を抑制する効果も見られている。その他、肺高血圧症、虚血再灌流傷害、乾癬、アトピー性皮膚炎への関与も示唆されている。

おわりに

CX3CR1 は、エフェクターキラーリンパ球や成熟単球・マクロファージと骨髄系樹状細胞など、いわゆる最終分化・成熟した細胞に発現するユニーク

な受容体である。これら細胞は、関節リウマチや喘息などの慢性炎症疾患の際に血液中に増加する集団であり、臨床病態と密接に関与している。CX3CR1-フラクタルカイン系の慢性炎症における役割の解明は、CX3CR1+細胞が末梢血中で増加する意義や病態形成への関与を含め、今後の重要な課題である。すでに様々な疾患において、フラクタルカイン-CX3CR1 系の関与を示唆する結果が蓄積されつつある。また、中和抗体やノックアウトマウスの結果から、フラクタルカイン-CX3CR1 系の機能阻害により疾患制御が可能であることが明らかとなってきた。今後、フラクタルカイン-CX3CR1 系の機能阻害による慢性炎症疾患治療への応用が期待される。従来の免疫抑制剤、酵素阻害剤、抗サイトカイン療法などで、病変部における高濃度の標的分子を阻害しようとする、正常部位における低濃度での生理的活性をも阻害してしまう危険性がある。ケモカイン受容体阻害剤は、病変部への細胞浸潤を時空間的に制御することで、生理的機能に影響を及ぼさず局所での過剰な反応を選択的に抑制する安全性の高い薬剤となることが期待される。

文 献

- 1) Butcher E, Williams M, Youngman K, et al. : Lymphocyte trafficking and regional immunity. *Adv Immunol.* **72** : 209-253, 1999.
- 2) Butcher E : Leukocyte-endothelial cell recognition : three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* **67** : 1033-1036, 1991.
- 3) 今井俊夫 : ケモカインと接着分子のハイブリッド分子 fractalkine. *Annual review 免疫* 2000, 東京, 中外医学社, 186-192, 1999.
- 4) Umehara H, Bloom E, Okazaki T, et al. : Fractalkine and vascular injury. *Trends Immunol* **22** : 602-607, 2001.
- 5) Bazan Jf, Bacon Kb, Hardiman G, et al. : A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. *Nature* **385** : 640-644, 1997.
- 6) Yoshie O, Imai T, and Nomiyama H : Chemokines in immunity. *Adv Immunol* **78** : 57-110, 2001.
- 7) Fong Am, Erickson Hp, Zachariah Jp, et al. : Ultrastructure and function of the fractalkine mucin domain in CX(3)C chemokine domain presentation. *J Biol Chem* **275** : 3781-3786, 2000.
- 8) Imaizumi T, Yoshida H, and Satoh K : Regulation of CX3CL1/fractalkine expression in en-

- dothelial cells. *J Atheroscler Thromb* **11** : 15–21, 2004.
- 9) Fraticelli P, Sironi M, Bianchi G, et al. : Fractalkine (CX3CL1) as an amplification circuit of polarized Th1 responses. *J Clin Invest* **107** : 1173–1181, 2001.
 - 10) Shiraishi K, Fukuda S, Mori T, et al. : Identification of fractalkine, a CX3C-type chemokine, as a direct target of p53. *Cancer Res* **60** : 3722–3726, 2000.
 - 11) Tsou Cl, Haskell Ca, and Charo If : Tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme mediates the inducible cleavage of fractalkine. *J Biol Chem* **276** : 44622–44626, 2001.
 - 12) Garton Kj, Gough Pj, Blobel Cp, et al. : Tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme (ADAM17) mediates the cleavage and shedding of fractalkine (CX3CL1). *J Biol Chem* **276** : 37993–38001, 2001.
 - 13) Imai T, Hieshima K, Haskell C, et al. : Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell* **91** : 521–530, 1997.
 - 14) Faure S, Meyer L, Costagliola D, et al. : Rapid progression to AIDS in HIV+ individuals with a structural variant of the chemokine receptor CX3CR1. *Science* **287** : 2274–2277, 2000.
 - 15) Moatti D, Faure S, Fumeron F, et al. : Polymorphism in the fractalkine receptor CX3CR1 as a genetic risk factor for coronary artery disease. *Blood* **97** : 1925–1928, 2001.
 - 16) Goda S, Imai T, Yoshie O, et al. : CX3C-chemokine, fractalkine-enhanced adhesion of THP-1 cells to endothelial cells through integrin-dependent and -independent mechanisms. *J Immunol* **164** : 4313–4320, 2000.
 - 17) Hundhausen C, Misztela D, Berkhout Ta, et al. : The disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 is involved in constitutive cleavage of CX3CL1 (fractalkine) and regulates CX3CL1-mediated cell-cell adhesion. *Blood* **102** : 1186–1195, 2003.
 - 18) Fong Am, Robinson La, Steeber Da, et al. : Fractalkine and CX3CR1 mediate a novel mechanism of leukocyte capture, firm adhesion, and activation under physiologic flow. *J Exp Med* **188** : 1413–1419, 1998.
 - 19) Fong Am, Alam Sm, Imai T, et al. : CX3CR1 tyrosine sulfation enhances fractalkine-induced cell adhesion. *J Biol Chem* **277** : 19418–19423, 2002.
 - 20) Nishimura M, Umehara H, Nakayama T, et al. : Dual functions of fractalkine/CX3C ligand 1 in trafficking of perforin+/granzyme B+ cytotoxic effector lymphocytes that are defined by CX3CR1 expression. *J Immunol* **168** : 6173–6180, 2002.
 - 21) Yoneda O, Imai T, Goda S, et al. : Fractalkine-mediated endothelial cell injury by NK cells. *J Immunol* **164** : 4055–4062, 2000.
 - 22) Yoneda O, Imai T, Nishimura M, et al. : Membrane-bound form of fractalkine induces IFN-gamma production by NK cells. *Eur J Immunol* **33** : 53–58, 2003.
 - 23) Geissmann F, Jung S, and Littman Dr : Blood Monocytes Consist of Two Principal Subsets with Distinct Migratory Properties. *Immunity* **19** : 71–82, 2003.
 - 24) Ancuta P, Rao R, Moses A, et al. : Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16+ monocytes. *J Exp Med* **197** : 1701–1707, 2003.
 - 25) Sunderkotter C, Nikolic T, Dillon Mj, et al. : Subpopulations of mouse blood monocytes differ in maturation stage and inflammatory response. *J Immunol* **172** : 4410–4417, 2004.
 - 26) Jung S, Aliberti J, Graemmel P, et al. : Analysis of fractalkine receptor CX(3)CR1 function by targeted deletion and green fluorescent protein reporter gene insertion. *Mol Cell Biol* **20** : 4106–4114, 2000.
 - 27) Niess Jh, Brand S, Gu X, et al. : CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science* **307** : 254–258, 2005.
 - 28) Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, et al. : Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol* **2** : 361–367, 2001.
 - 29) Schafer A, Schulz C, Eigenthaler M, et al. : Novel role of the membrane-bound chemokine fractalkine in platelet activation and adhesion. *Blood* **103** : 407–412, 2004.
 - 30) Meucci O, Fatatis A, Simen Aa, et al. : Chemokines regulate hippocampal neuronal signaling and gp120 neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95** : 14500–14505, 1998.
 - 31) Volin Mv, Woods Jm, Amin Ma, et al. : Fractalkine : a novel angiogenic chemokine in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* **159** : 1521–1530, 2001.

- 32) Umehara H, Bloom Et, Okazaki T, et al. : Fractalkine in Vascular Biology : From Basic Research to Clinical Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **24** : 34–40, 2004.
- 33) Nanki T, Imai T, Nagasaka K, et al. : Migration of CX3CR1-positive T cells producing type 1 cytokines and cytotoxic molecules into the synovium of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **46** : 2878–2883, 2002.
- 34) Nanki T, Urasaki Y, Imai T, et al. : Inhibition of fractalkine ameliorates murine collagen-induced arthritis. *J Immunol* **173** : 7010–7016, 2004.
- 35) Hansson Gk : Immune Mechanisms in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **21** : 1876–1890, 2001.
- 36) Greaves Dr, Hakkinen T, Lucas Ad, et al. : Linked chromosome 16q13 chemokines, macrophage-derived chemokine, fractalkine, and thymus- and activation-regulated chemokine, are expressed in human atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **21** : 923–929, 2001.
- 37) Wong Bwc, Wong D, and Mcmanus Bm : Characterization of fractalkine (CX3CL1) and CX3CR1 in human coronary arteries with native atherosclerosis, diabetes mellitus, and transplant vascular disease. *Cardiovascular Pathology* **11** : 332–338, 2002.
- 38) Mcdermott Dh, Fong Am, Yang Q, et al. : Chemokine receptor mutant CX3CR1-M280 has impaired adhesive function and correlates with protection from cardiovascular disease in humans. *J Clin Invest* **111** : 1241–1250, 2003.
- 39) Mcdermott Dh, Halcox Jp, Schenke Wh, et al. : Association between polymorphism in the chemokine receptor CX3CR1 and coronary vascular endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Circ Res* **89** : 401–407, 2001.
- 40) Lesnik P, Haskell Ca, and Charo If : Decreased atherosclerosis in CX3CR1^{-/-} mice reveals a role for fractalkine in atherogenesis. *J Clin Invest* **111** : 333–340, 2003.
- 41) Combadiere C, Potteaux S, Gao JI, et al. : Decreased atherosclerotic lesion formation in CX3CR1/apolipoprotein E double knockout mice. *Circulation* **107** : 1009–1016, 2003.
- 42) Greaves Dr and Channon Km : Inflammation and immune responses in atherosclerosis. *Trends in Immunology* **23** : 535–541, 2002.
- 43) Nakajima T, Schulte S, Warrington Kj, et al. : T-Cell-Mediated Lysis of Endothelial Cells in Acute Coronary Syndromes. *Circulation* **105** : 570–575, 2002.
- 44) Zal B, Kaski Jc, Arno G, et al. : Heat-shock protein 60-reactive CD4+CD28null T cells in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* **109** : 1230–1235, 2004.
- 45) Haskell Ca, Hancock Ww, Salant Dj, et al. : Targeted deletion of CX(3)CR1 reveals a role for fractalkine in cardiac allograft rejection. *J Clin Invest* **108** : 679–688, 2001.
- 46) Robinson La, Nataraj C, Thomas Dw, et al. : A role for fractalkine and its receptor (CX3CR1) in cardiac allograft rejection. *J Immunol* **165** : 6067–6072, 2000.
- 47) Abdi R, Tran Tb, Sahagun-Ruiz A, et al. : Chemokine receptor polymorphism and risk of acute rejection in human renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* **13** : 754–758, 2002.
- 48) Guo J, Zhang M, Wang B, et al. : Fractalkine transgene induces T-cell-dependent antitumor immunity through chemoattraction and activation of dendritic cells. *Int J Cancer* **103** : 212–220, 2003.
- 49) Lavergne E, Combadiere B, Bonduelle O, et al. : Fractalkine mediates natural killer-dependent antitumor responses in vivo. *Cancer Res* **63** : 7468–7474, 2003.
- 50) Gao Jq, Tsuda Y, Katayama K, et al. : Antitumor Effect by Interleukin-11 Receptor alpha-Locus Chemokine/CCL27, Introduced into Tumor Cells through a Recombinant Adenovirus Vector. *Cancer Res* **63** : 4420–4425, 2003.
- 51) Shulby Sa, Dolloff Ng, Stearns Me, et al. : CX3CR1-fractalkine expression regulates cellular mechanisms involved in adhesion, migration, and survival of human prostate cancer cells. *Cancer Res* **64** : 4693–4698, 2004.
- 52) Segerer S, Hughes E, Hudkins KI, et al. : Expression of the fractalkine receptor (CX3CR1) in human kidney diseases. *Kidney Int* **62** : 488–495, 2002.
- 53) Feng L, Chen S, Garcia Ge, et al. : Prevention of crescentic glomerulonephritis by immunoneutralization of the fractalkine receptor CX3CR1 rapid communication. *Kidney Int* **56** : 612–620, 1999.
- 54) Foussat A, Bouchet-Delbos L, Berrebi D, et al. : Deregulation of the expression of the fractalkine/fractalkine receptor complex in HIV-1-infected patients. *Blood* **98** : 1678–1686, 2001.