特集：分子標的治療からみた病態へのアプローチ
総 説

治療標的としての IL-23/IL-17 連関

佐藤浩二郎

The IL-23/IL-17 axis as a therapeutic target

Kojiro SATO

Department of Rheumatology and Applied Immunology, Saitama Medical University

(Accepted June 4, 2013)

summary

T helper (Th) cells are known to differentiate into several distinct subsets depending on their environment. The Interleukin 17 (IL-17)-producing subset Th17, which was reported and named in 2005, has been extensively analyzed because a strong association with inflammatory disorders has been suggested. The condition in which Th17 cells are differentiated, critical transcription factors, and similarity and difference between mouse and human Th17 cells have been reported one after the other. IL-23, which is believed to be important for the activation of Th17 cells, and IL-17 became promising targets for drug development. In fact, biological drugs that block the IL-23/IL-17 axis have demonstrated to be highly effective against the inflammatory skin disease psoriasis and have been approved for clinical use. Here an overview and brief history of the basic research on Th17 cells are provided, with the latter full of surprises and unexpected twists in the plot. The current state of biological drug development is also described.

Key words——Th17; IL-17; IL-23; ustekinumab

抄 録

ヘルパー T (Th) 細胞は周囲の環境に応じて各種のサブセットに分化することが知られている。2005 年に報告・命名されたインターロイキン 17 (IL-17) 産生性の Th17 細胞サブセットは、炎症性疾患との関連が強く示唆されたことから精力的に解析が進められた。Th17 細胞の分化条件、重要な転写因子やマウスとヒトとの異同等が次々に明らかになり、IL-17 および Th17 細胞の活性化に重要とされる IL-23 は創薬の有力な候補となった。実際に IL-23/IL-17 連関を阻害する生物学的製剤が、特に皮膚の炎症性疾患である乾癬の治療薬として高い効果を示すことが報告され、実用化された。本稿では紆余曲折があった Th17 細胞の基礎研究と、生物学的製剤開発の現況について概説する。

I. Th17 細胞の発見

ヘルパー T (Th) 細胞は細胞傷害性 T (Tc) 細胞と同様、胸腺で分化する。その後末梢に移動し、Th1, Th2 の 2 種類のサブセットに分化する¹⁾。Th1 細胞はインターロイキン (IL)-12 存在下で分化し主としてインターフェロン (IFN)- γ を産生する。IFN- γ はマクロファージを強力に活性化し、細胞内に感染する病原体の排除を促進する(細胞性免疫)。一方 IL-4 存在下で分化する Th2 細胞は、自身が IL-4 などを産生する。Th2 型サイトカインは B 細胞に作用して IgM から IgG1, IgE へのクラススイ

ッチを誘導し、細胞外寄生体(線虫など)の排除に寄与する(液性免疫)。分化の方向性を決める主な因子は Th 細胞周囲のサイトカインであり、Th 細胞は環境に応じて柔軟に変化することができる。更に興味深い性質として、IFN- γ は Th2 分化を阻害し IL-4 は Th1 分化を阻害するという排他性があり、理論的には一旦 Th1/2 分化の偏りができるとその偏りが維持されるということになる(図 1)。これが炎症性疾患の病因についての 1 つの有力な仮説となっていた。実際関節リウマチ(rheumatoid arthritis, RA)は Th1 型の疾患であるとされた²⁾。

しかしこの仮説では説明のつかない現象も徐々に蓄積していた。その例の一つが RA の実験モデルとして用いられているコラーゲン誘導関節炎(colla-

図1 初期のTh1/Th2モデル

Th1, Th2 がそれぞれ細胞性免疫・液性免疫を担当し、お互いに分化を阻害し合う排他的な性質を持っている。このため免疫応答のバランスが崩れ自己免疫疾患を引き起こすという仮説が立てられた。

gen induced arthritis, CIA) である。IFN- γ やその受容体のノックアウトマウスは Th1 応答ができないので、もし CIA が Th1 型の疾患モデルであれば、それらのマウスの関節炎は減弱することが予想される。しかし結果は逆であり、関節炎症状は増悪する^{3~5)}。同様のことが多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) のモデルとされる実験的アレルギー性脳脊髄炎 (experimental allergic encephalomyelitis, EAE) でも報告されている^{6~10)}。これらの「反例」は Th1/Th2 の二分法では説明できない。それにも関わらず Th1/Th2 パラダイムは強固なパラダイムとして、大きく改訂されることなく 20 年近くの時間が経過した。

2005 年に新しいエフェクター Th 細胞サブセットとして Th17 細胞が報告された^{11,12)}。17 番目のサブセットではなく IL-17 (IL-17A) を産生することからの命名である。Nat. Immunol. 誌に連載で発表されたこのサブセットは、2 報共にほとんど同じ方法で誘導されていた。すなわち IFN- γ と IL-4 を抗体で中和した上で IL-23 刺激をしている。これは Th1, Th2 型のサイトカインの存在下ではこの IL-17 産生細胞を検出しがたいことを意味する。Th1, Th2 細胞の排他的な性質は Th17 細胞分化にも向けられていた訳である。IL-23 は 2000 年に DNAX 研究所から報告された新規サイトカインで、IL-12 とサブユニット p40 を共有するヘテロダイマーである¹³⁾ (図 2)。EAE の発症に重要なのは Th1 応答に必須の IL-12 ではなく実は IL-23 の方であるという Cua 博士らの報告と¹⁴⁾、このサイトカインがメモリー T 細胞からの IL-17 産生を誘導するという

図2 IL-12 と IL-23 の関係

IL-12 と IL-23 はサブユニット p40 を共有するヘテロダイマーである。IL-12 は p40 と p35, IL-23 は p40 と p19 の組み合わせである。受容体も IL-12 受容体 $\beta 1$ サブユニットを共有している。IL-12 は主に Stat4 を、IL-23 は Stat3 を活性化する。

Aggarwal 博士らの報告¹⁵⁾を考慮すると、Th17 細胞が見いだされるのは時間の問題だったとも言えるだろう。(これに先駆けて東京女子医科大学の小竹博士らが RA 患者の関節液中に IL-17 を検出し、それが骨吸収を司る破骨細胞の分化に重要であることを報告していることは興味深い¹⁶⁾)。これら一連の発見により Th1/Th2 コンセプトは大改訂を余儀なくされた。一種のパラダイム・シフトである。RA や MS は Th1 型の疾患ではなく Th17 型の疾患である可能性が示唆されたこともあり、このサブセットは注目を集めた。

1. Th17 細胞の分化メカニズム

しかし Th17 研究は決してスムーズに進んだわけではない。むしろ短期間の内に紆余曲折を繰り返した。2006 年には早くも、IL-23 は分化因子ではなく増殖因子であると報告された^{17,18)}。ナイーブ Th 細胞にはそもそも IL-23 受容体が十分発現していないのである。真の分化因子は IL-6 と TGF- β の組み合わせであることが提唱された。炎症性サイトカインの IL-6 はともかく、抑制性サイトカインの代表とも言える TGF- β が Th17 分化に関わるというのは筆者にとって大きな驚きであった。どうしてその組み合わせに気づいたのかが分からなかった。しかしその報告をした Kuchroo 博士のセミナーを聴く機会があり、疑問がとけた。実は彼らは元々抑制性 T 細胞の研究をしており、抑制性 T 細胞の誘導に重要とされる TGF- β と他のサイトカインの組み合わせの効果を調べていたのだという。TGF- β の方が先にありきだったのだ。それにしても IL-17 の産生を測定していたところがすばらしい。Kuchroo 博士は今や押しも押されもしない Th17 細胞の大御所になっている。

更に、ヒトでは Th17 分化に TGF- β は不要と報告された^{19,20}。これらの報告では、ヒト Th17 分化における炎症性サイトカイン IL-1 β の重要性が強調されている。しかしこれについては TGF- β はやはり必要である、とすぐさま反論されている^{21,22}。培養液中の血清に含まれている程度の微量の TGF- β で十分ということである。ヒトの検体を用いた実験の難しさが伺える。

IL-23 に関しても Cua 博士らが単なる増殖因子ではなく、Th17 細胞に促炎症性を付与するサイトカインであると主張し、IL-23-IL-17 連関の重要性を再度提起している²³。別に増殖因子だから分化因子より劣る、ということはないだろうが、IL-23 をクローニングした DNAX グループ（現 Schering-Plough Biopharma）のプライドを感じさせるものであった。Th17 分化を規定するマスターレギュレーター転写因子としては ROR γ t が報告された²⁴。同じファミリーに属する ROR α も関与するようである²⁴。更に、ダイオキシン受容体としても知られる転写因子 Aryl hydrocarbon receptor も Th17 分化を制御することが報告された^{25,26}。

2. Th17 細胞の本来の役割とは

Th17 細胞の役割は当然 IL-17 の役割と密接な関係がある。IL-17 は各種ケモカインの発現を誘導することにより好中球の遊走を促す。たとえば RA 患者由来の滑膜細胞に *in vitro* で IL-17 を添加すると CXCL1 などのケモカイン分泌が著増する（太田ら、未発表データ）。また IL-17 と顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）を共に産生する Th 細胞が 2000 年に報告されており²⁷、これが

Th17 の先駆的な研究と言えるが、併せて考えると Th17 細胞の役割は好中球応答の増強であると考えられる²⁸（図 3）。実際 IL-17 やその受容体の欠損マウスは各種の細菌感染症に弱いことが報告されている^{29,30}。また IL-17 欠損マウスを作出した中江らは、このマウスが CIA 抵抗性であることを見いだした³¹。つまり CIA は Th1 型疾患ではなく Th17 型の疾患であることが強く示唆される。しかし、この実験事実は RA もまた Th17 疾患である、ということ必ずしも意味しない点に注意が必要である。

II. 治療標的としての IL-17, IL-23

RA の治療は抗 TNF α 製剤をはじめとする生物学的製剤の開発で劇的に進歩した。それでは抗 IL-17 抗体は RA に対して有効だろうか？ Genovese らの報告を見る限り、治験ではある程度の有効性を示したとのことであるが、残念ながら抗 TNF α 製剤ほどの切れ味があるようには思えない³²。一方、IL-23 の p40 サブユニットに対する抗体 ustekinumab³³ が乾癬、乾癬性関節炎に対して高い効果を示し、本邦でも治療薬としての認可を受けた。前述のように p40 は IL-12 のサブユニットでもあり、ustekinumab は抗 IL-12/IL-23 抗体ということになる。後者の寄与が高いと考えられている。なぜなら、病変部の皮膚では IL-23 の p19 サブユニットの発現上昇が認められるが IL-12p35 サブセットの発現上昇は見られないこと³⁴、IL-17 も高発現を認め治療効果に伴い発現が低下すること、INF- γ の発現低下は遅れること^{35,36}などが報告されている。また、マウス皮膚に IL-23 を投与すると乾癬様の皮膚病変を誘導できる^{37,38}。更に 2012 年、IL-17 シグナ

図3 新しいThサブセットの概念図

Th17 細胞が好中球活性化を司るサブセットと考えられるようになった。Th2 細胞は好酸球や好塩基球の活性化を通じてアレルギー応答を制御する。

図4 新規生物学的製剤

本邦で認可された ustekinumab の他に、IL-17 やその受容体をターゲットとした製剤が開発されている。

ルをブロックする各種生物学的製剤の乾癬に対する優れた治療成績が相次いで報告された^{39,40)} (図4)。併せて考えると、乾癬においては IL-23/IL-17 連関が重要であることが強く示唆される。

低分子薬剤も開発が進んでおり、Nature 誌に掲載された ROR 阻害薬は Th17 分化を阻害するのみならず前述の EAE の症状を減弱したとのことである⁴¹⁾。同じ号にジゴキシンおよび誘導体が ROR γ t 活性を低下させて Th17 細胞分化を阻害することが報告されており⁴²⁾、興味深かった。ひょっとしたら将来、ジゴキシンで炎症性疾患を治療する時代が来るのかもしれない。

1. Th17 を超えて広がる IL-17 の世界

2010 年に RA の滑膜で IL-17 を発現している細胞のほとんどは T 細胞ではなく肥満細胞であると報告された⁴³⁾。Th17 $\rightarrow$ IL-17 という仮説に真っ向から挑戦したこの論文は、発表直後に開催されたヨーロッパリウマチ学会でもかなり驚きと関心をもって受け止められていたが、その後同様の論文が発表された⁴⁴⁾。そもそも IL-17 産生細胞は Th 細胞に限定されるものではなく、腸管や皮膚に多く存在する $\gamma\delta$ 陽性 T 細胞も IL-17 を産生することが知られている⁴⁵⁾。そのため乾癬において IL-17 を産生する

主な細胞も $\gamma\delta$ T 細胞の可能性もある^{46,47)}。 $\gamma\delta$ T 細胞は $\alpha\beta$ T 細胞よりも T 細胞受容体のレパートリーが限られている。獲得免疫系の細胞というよりもむしろ自然免疫系の細胞に近いかもしれない。肥満細胞は勿論自然免疫系の細胞である。このような背景から、自然免疫系による IL-17 産生に関心が集まっている。実際、乾癬においても肥満細胞の果たす役割が注目されている⁴⁸⁾。

2. 期待される今後の展開

炎症性腸疾患にも ustekinumab は効果を示すことが報告された⁴⁹⁾。これがターゲットとしているのが IL-23/IL-17 なのか、IL-12/IFN- γ なのか、あるいはその両方なのかは興味が持たれる。また前述のように IL-23/IL-17 連関が自然免疫系において果たす役割は今後精力的に解析されることだろう。

Th17 細胞研究も終焉したわけではない。Th17 細胞の可塑性はホットなトピックの 1 つであり、廣田博士らの遺伝子改変マウスを用いたエレガントな解析により様々なことが明らかになっている。IL-17 を産生した細胞が（その産生が停止した後も）蛍光を発するように設計されたマウスの解析から、IL-17 産生 Th 細胞がその後 IL-17/IFN- γ を共に産生する細胞になり、さらに IFN- γ 単独産生細胞に変化することが報告された⁵⁰⁾。さらに、同グループより、Th17 細胞が腸管のパイエル板で濾胞 Th 細胞に分化し高親和性 IgA の産生に寄与することが最近報告された⁵¹⁾。このような遺伝子改変マウスを利用することで、これまで知見の乏しかった Th1/Th2/Th17 サブセットの間の可塑性や、濾胞 Th 細胞との関係が徐々に判明してきているし、炎症の持続という自己免疫疾患のメカニズムの一端も今後明らかになるかもしれない。生物学的製剤を中心とした臨床的知見と基礎研究が両輪となって難治性疾患の克服につながることを期待している。

文 献

- 1) Mosmann, T.R., et al. : Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* **136** : 2348–2357, 1986.
- 2) Smolen, J.S., et al. : The role of T-lymphocytes and cytokines in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* **25** : 1–4, 1996.
- 3) Manoury-Schwartz, B., et al. : High susceptibility to collagen-induced arthritis in mice

- lacking IFN- γ receptors. *J Immunol* **158** : 5501–5506, 1997.
- 4) Vermeire, K., et al. : Accelerated collagen-induced arthritis in IFN- γ receptor-deficient mice. *J Immunol* **158** : 5507–5513, 1997.
- 5) Guedez, Y.B., et al. : Genetic ablation of interferon-gamma up-regulates interleukin-1beta expression and enables the elicitation of collagen-induced arthritis in a nonsusceptible mouse strain. *Arthritis Rheum* **44** : 2413–2424, 2001.
- 6) Billiau, A., et al. : Enhancement of experimental allergic encephalomyelitis in mice by antibodies against IFN-gamma. *J Immunol* **140** : 1506–1510, 1988.
- 7) Ferber, I.A., et al. : Mice with a disrupted IFN-gamma gene are susceptible to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *J Immunol* **156** : 5–7, 1996.
- 8) Krakowski, M., Owens, T. : Interferon-gamma confers resistance to experimental allergic encephalomyelitis. *Eur J Immunol* **26** : 1641–1646, 1996.
- 9) Voorthuis, J.A., et al. : Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by intraventricular administration of interferon-gamma in Lewis rats. *Clin Exp Immunol* **81** : 183–188, 1990.
- 10) Willenborg, D.O., et al. : IFN-gamma plays a critical down-regulatory role in the induction and effector phase of myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* **157** : 3223–3227, 1996.
- 11) Harrington, L.E., et al. : Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* **6** : 1123–1132, 2005.
- 12) Park, H., et al. : A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* **6** : 1133–1141, 2005.
- 13) Oppmann, B., et al. : Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity* **13** : 715–725, 2000.
- 14) Cua, D.J., et al. : Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature* **421** : 744–748, 2003.
- 15) Aggarwal, S., et al. : Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J Biol Chem* **278** : 1910–1914, 2003.
- 16) Kotake, S., et al. : IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* **103** : 1345–1352, 1999.
- 17) Bettelli, E., et al. : Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells. *Nature* **441** : 235–238, 2006.
- 18) Mangan, P.R., et al. : Transforming growth factor- β induces development of the Th17 lineage. *Nature* **441** : 231–234, 2006.
- 19) Acosta-Rodriguez, E.V., et al. : Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* **8** : 942–949, 2007.
- 20) Wilson, N.J., et al. : Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol* **8** : 950–957, 2007.
- 21) Manel, N., et al. : The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor ROR γ mat. *Nat Immunol* **9** : 641–649, 2008.
- 22) Volpe, E., et al. : A critical function for transforming growth factor-beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses. *Nat Immunol* **9** : 650–657, 2008.
- 23) McGeachy, M.J., et al. : TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* **8** : 1390–1397, 2007.
- 24) Ivanov, I.I., et al. : The orphan nuclear receptor ROR γ t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell* **126** : 1121–1133, 2006.
- 25) Kimura, A., et al. : Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **105** : 9721–9726, 2008.
- 26) Veldhoen, M., et al. : The aryl hydrocarbon receptor links Th17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. *Nature* **453** : 106–109, 2008.
- 27) Infante-Duarte, C., et al. : Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells. *J Immunol* **165** : 6107–6115, 2000.
- 28) Miossec, P., et al. : Interleukin-17 and type 17

- helper T cells. *N Engl J Med* **361** : 888–898, 2009.
- 29) Ye, P., et al. : Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J Exp Med* **194** : 519–527, 2001.
- 30) Huang, W., et al. : Requirement of interleukin-17A for systemic anti-*Candida albicans* host defense in mice. *J Infect Dis* **190** : 624–631, 2004.
- 31) Nakae, S., et al. : Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J Immunol* **171** : 6173–6177, 2003.
- 32) Genovese, M.C., et al. : LY2439821, a humanized anti-interleukin-17 monoclonal antibody, in the treatment of patients with rheumatoid arthritis : A phase I randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept study. *Arthritis Rheum* **62** : 929–939, 2010.
- 33) Griffiths, C.E., et al. : Comparison of ustekinumab and etanercept for moderate-to-severe psoriasis. *N Engl J Med* **362** : 118–128, 2010.
- 34) Lee, E., et al. : Increased expression of interleukin 23 p19 and p40 in lesional skin of patients with psoriasis vulgaris. *J Exp Med* **199** : 125–130, 2004.
- 35) Johnson-Huang, L.M., et al. : Effective narrow-band UVB radiation therapy suppresses the IL-23/IL-17 axis in normalized psoriasis plaques. *J Invest Dermatol* **130** : 2654–2663, 2010.
- 36) Zaba, L.C., et al. : Amelioration of epidermal hyperplasia by TNF inhibition is associated with reduced Th17 responses. *J Exp Med* **204** : 3183–3194, 2007.
- 37) Chan, J.R., et al. : IL-23 stimulates epidermal hyperplasia via TNF and IL-20R2-dependent mechanisms with implications for psoriasis pathogenesis. *J Exp Med* **203** : 2577–2587, 2006.
- 38) Zheng, Y., et al. : Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature* **445** : 648–651, 2007.
- 39) Papp, K.A., et al. : Brodalumab, an anti-interleukin-17-receptor antibody for psoriasis. *N Engl J Med* **366** : 1181–1189, 2012.
- 40) Leonardi, C., et al. : Anti-interleukin-17 monoclonal antibody ixekizumab in chronic plaque psoriasis. *N Engl J Med* **366** : 1190–1199, 2012.
- 41) Solt, L.A., et al. : Suppression of Th17 differentiation and autoimmunity by a synthetic ROR ligand. *Nature* **472** : 491–494, 2011.
- 42) Huh, J.R., et al. : Digoxin and its derivatives suppress Th17 cell differentiation by antagonizing ROR γ activity. *Nature* **472** : 486–490, 2011.
- 43) Hueber, A.J., et al. : Mast cells express IL-17A in rheumatoid arthritis synovium. *J Immunol* **184** : 3336–3340, 2010.
- 44) Suurmond, J., et al. : Mast cells are the main interleukin 17-positive cells in anticitrullinated protein antibody-positive and -negative rheumatoid arthritis and osteoarthritis synovium. *Arthritis Res Ther* **13** : R150, 2011.
- 45) Roark, C.L., et al. : gammadelta T cells : an important source of IL-17. *Curr Opin Immunol* **20** : 353–357, 2008.
- 46) Cai, Y., et al. : Pivotal role of dermal IL-17-producing gammadelta T cells in skin inflammation. *Immunity* **35** : 596–610, 2011.
- 47) Pantelyushin, S., et al. : ROR γ + innate lymphocytes and gammadelta T cells initiate psoriasiform plaque formation in mice. *J Clin Invest* **122** : 2252–2256, 2012.
- 48) Lin, A.M., et al. : Mast cells and neutrophils release IL-17 through extracellular trap formation in psoriasis. *J Immunol* **187** : 490–500, 2011.
- 49) Sandborn, W.J., et al. : Ustekinumab induction and maintenance therapy in refractory Crohn's disease. *N Engl J Med* **367** : 1519–1528, 2012.
- 50) Hirota, K., et al. : Fate mapping of IL-17-producing T cells in inflammatory responses. *Nat Immunol* **12** : 255–263, 2011.
- 51) Hirota, K., et al. : Plasticity of Th17 cells in Peyer's patches is responsible for the induction of T cell-dependent IgA responses. *Nat Immunol* **14** : 372–379, 2013.