熱ショック蛋白の臨床

簗田清次*

Possible involvement of heat shock proteins in autoimmune and inflammatory disorders

Heat shock protein(hsp), one of the most conserved and ubiquitous proteins from bacteria to mammals, was shown to be strongly immunogenic. These characteristics, i.e. conservation and immunogenicity, and the fact that hsp was the target molecule of some of γ/δ T cells placed this molecule at the interface between immunity and tolerance and the role of this molecule on autoimmune and inflammatory disorders has been vigorously investigated. Evidences accumulated so far are highly suggestive of the possible involvement of hsp in clinical disorders but still circumstantial.

Two things must be solved. ① Why conserved proteins are so immunogenic? Mechanism of molecular mimicry is really at work? ② Why ubiquitous proteins could be a target of organ-specific autoimmunity?

Seiji Minota*

key words : heat shock protein, chaperone, γ/δ T cell, autoimmune disease, inflammation

熱ショック蛋白が、疾患との関連で注目を集めるようになってから数年が経過した。当初は慢性関節リウマチを中心とした膠原病がその研究の中心になっていたが、最近ではこの分野に限らず非常に多くの疾患で熱ショック蛋白が採り上げられ、その対象分野は現在もなお広がりつつけている。ところが一方、疾患との関連性という点で熱ショック蛋白が深く関係しているという確かな証拠がどの程度あげられるであろうか。

この総説では、疾患との関係における熱ショック蛋白のこれまでの研究の流れ、今後の動向および熱ショック蛋白を取り巻く問題点を改めて考えてみたいと思う。

熱ショック蛋白とは

動物は、精神的あるいは肉体的なストレスにさらされた場合、神経系あるいは内分泌系を動員し、そのストレスの個体への悪影響を最小限に抑えようとする。これは個体レベルでのストレス応答であるが、ストレスに反応して自らを守ろうとする

反応は細胞レベルにおいても認められる。たとえば、非生理的な高温にさらされた細胞は、細胞内蛋白が熱変性してしまい死滅する。ところが、軽い熱刺激に予めさらされた細胞は、つぎの、通常では致死的な高温にも耐えうる。これは初回の熱刺激の際に細胞のストレスに対する反応として一連の蛋白の産生が亢進し、この蛋白が熱による細胞障害を最小限に食い止めたためである。この熱により産生が亢進し、細胞保護に働いた蛋白が熱ショック蛋白である。

熱ショック蛋白の増加は、遺伝子の転写が亢進したためであり、これは熱刺激により転写因子(heat shock factor, HSF)が活性化を受け、これが遺伝子のプロモーター領域に存在する熱ショックエレメント(HSE)に結合し、熱ショック蛋白の転写が盛んになるためである。熱刺激は産生亢進をもたらす刺激の一つにすぎず、表1¹⁾に示すようにさまざまなものが知られている。したがって、ストレス蛋白という名称のほうが一般的であると思われる。

熱ショック蛋白は通常、その分子量にちなんで命名されている。その代表例として分子量が 90 kD の hsp90、同様に hsp70, hsp60, hsp47, hsp32

* Division of Clinical Immunology, Department of Medicine, Jichi Medical School 自治医科大学アレルギー膠原病学教室

などがあげられる。hsp65 という熱ショック蛋白がのちに自己免疫疾患との関連で話題にのぼるが、これはマイコバクテリアの hsp60 のことであり、したがって、このグループは hsp60 とよばれたり、hsp65 とよばれたりすることがある。

特殊な熱ショック蛋白としては、ライソゾームを経由せず細胞質内で行われる蛋白分解機構において重要な役割を果たしているユビキチンや、クロマチン蛋白の構成成分であるヒストン H2B などがあげられる。熱ショック蛋白はストレス下でその発現量が亢進するが、通常状態でも多量に存在しており、生理的に重要な役割を担っていることが明らかにされてきている。ストレス下ではその蛋白量を増加させ、通常状態での機能を最大限に発揮することにより細胞保護に働くことが考えられる。

表2に代表的な熱ショック蛋白の局在や自己免疫疾患との関連で注目を集めている点についてまとめてみた²⁾。簡単に解説を加える。

分子量が 90 kD の hsp90 は熱ショック蛋白のなかでもその発現量をもっとも多い。おもに細胞質に分布し、セリン/スレオニン残基が強くリン酸化を受けている。これは表3³⁾に示すようなさまざまな分子と複合体を形成している。たとえば、細胞質内でステロイドホルモン受容体と結合しており、ステロイドホルモン受容体の核への移動およびステロイドホルモン-受容体複合体の遺伝子制御部位(responsive element)への結合をブロックしている⁴⁾。細胞質内で受容体とそのリガンドであるステロイドホルモンと結合すると、hsp90 が受容体から解離し、この解離がきっかけとなってステロイドホルモンの作用が発揮されると考えられている⁵⁾(図1)。hsp90 によるステロイドホルモン受容体の抑制作用は、hsp90 が細胞骨格であるアクチンと結合することにより、受容体-hsp90 アクチンの複合体が機能的に細胞質に留まらざるをえないことによるのかもしれない⁶⁾。

hsp70 は、分子量が少しずつ異なる数種類の蛋白からなるファミリーを形成している。constitutive に発現している hsp73、刺激時にのみ発現される hsp72、ミトコンドリアに局在している hsp75、および小胞体蛋白である grp78(BiP)などが含まれる。細胞外のものを取り込みこれをライ

表1 熱ショック蛋白の発現を誘導する因子

環境・化学物質	生理的ストレス・病的状態	その他の要因
熱ショック	発熱	細胞周期
放射線	ウイルス感染	発生
重金属	炎症	分化
亜ヒ酸塩	スーパーオキシド	サイトカイン
エタノール	虚血	
アミノ酸類似物質	肥大	
グルコース欠乏	癌遺伝子・癌化	
糖鎖付加阻害薬		
カルシウムイオノフォア

図1 ステロイドホルモンと hsp 90 の細胞内での結合

細胞質内でアクチンと結合した hsp 90 は DNA 結合部位を覆うようにステロイドホルモン受容体と結合している。受容体にステロイドホルモンが結合すると hsp 90 との結合が解離し、受容体-ホルモン複合体は核へ移動し、遺伝子の転写を促進する(文献⁵⁾を参照した)。

ソゾームへと運ぶ小胞は、クラスリンという裏打ち蛋白を有しているが、この小胞がライソゾームと融合するためにはクラスリンが取り除かれなければならない。hsp70 は ATP 依存性にこれを行う⁷⁾。また hsp70 には、細胞内で合成されたばかりの未熟な蛋白と相互作用しながら、この蛋白が小胞体内に移動し、この中で高次構造を形成したり糖が付加されたりする、すなわち分子が成熟するのを助ける働きがある。hsp70 のもつこの機能、すなわち蛋白質の折り畳みや集合体形成に際し機能的な高次構造の形成を助け、最終的な構造体に含まれない分子に対して分子シャペロンという新しい名が与えられている。ミトコンドリアに存在

表 2 各種熱ショック蛋白の局在とその特徴

名称	存在部位	自己免疫疾患との関連での特徴
hsp90 family	細胞質, 細胞膜, 核小体	抗リンパ球抗体のターゲットの可能性
hsp70 family	核小体, 核, 細胞質, 細胞膜	IgG-Fc を結合? 強皮症線維芽細胞での発現量の増加
hsp60 family	ミトコンドリア, 細胞膜	慢性関節リウマチにおける自己抗体
hsp47	細胞膜	コラーゲンに結合する糖蛋白
hsp32	細胞質	紫外線照射による発現量の増加
hsp28	細胞質	リン酸化蛋白
ヒストン H2B	核	自己抗原
ユビキチン	細胞質, 核	SLE の自己抗原

し、関節炎との関連でもっとも注目を集めている hsp60 はその代表であり、特にシャペロニンとよばれている。

hsp47⁸⁾ は、コラーゲン線維と結合し、また、hsp32⁹⁾ は、紫外線やリウマチの治療薬である金製剤により発現誘導を受けるために、強皮症や慢性関節リウマチとの関連でわれわれは現在注目している。

また、熱ショック蛋白は熱刺激により活性化された HSF に結合することにより、これを不活性化し autoregulate しているともいわれている。

熱ショック蛋白と感染症

結核をはじめとするマイコバクテリア感染症に対するワクチン開発の面からマイコバクテリアの感染を受けた際に、細菌のどの抗原に対してもっとも強い液性・細胞性免疫反応がもたらされるかが調べられた。実験的にマイコバクテリアの溶菌液をマウスに免疫して、マイコバクテリア反応性 T 細胞の対応抗原が追究されたところ、マイコバクテリア反応性 CD4 陽性 T 細胞の約 20% が 65 kD 抗原によって活性化を受け増殖した¹⁰⁾。すなわち、マイコバクテリアの 65 kD 蛋白が主要な免疫原であることが判明したが、この蛋白の遺伝子がのちにクローニングされ塩基配列が調べられたところ、大腸菌の gro-EL に酷似しており、熱ショック蛋白 (hsp60 に相当) であることが明らかとなった¹¹⁾。

この hsp65 が主要な免疫原になっている感染症は、マイコバクテリアにとどまらず表 4¹²⁾ に示すように、コクシエラ、トレポネーマ、レジオネラ、クラミジア、ボレリアさらには住血吸虫と数多くのものが見出された。

hsp60 に限らず熱ショック蛋白一般にいえることであるが、hsp は原核細胞から哺乳類細胞に至るまで種を越えてアミノ酸配列が相同性高く保存された蛋白である。にもかかわらず、表 4 に示したように感染症において免疫原性が非常に高いという特徴を同時に兼ね備えている。すなわち、熱ショック蛋白は免疫 (immunity) と寛容 (tolerance) の接点に位置する蛋白として捉えられるようになり、自己免疫疾患における役割が追究されるようになった。

熱ショック蛋白と免疫系

熱ショック蛋白と免疫系がいくつかの点において深い係わり合いをもっている。流血中の T リンパ球はその受容体の種類により、 α/β 型と γ/δ 型に二分できる。後者の γ/δ 型 T 細胞は、ほんの数% を占めるにすぎず、受容体の多様性も前者の α/β 型にくらべずっと小さい。この種の T 細胞の生体内での機能、あるいは抗原認識機構については不明の点が多かった。

最近になって、一部の γ/δ 型 T 細胞がマイコバクテリアの熱ショック蛋白 hsp65 に対して反応性を有することが確認された¹³⁻¹⁴⁾。この hsp65 は前述の感染症における免疫原性が高い熱ショック蛋白と同一のものである。MHC による拘束性があるのか、あるとすればそれはクラス I であるのかクラス II であるのか、またはもっとポリモルフィズムの少ないもの (たとえばクラス I b のような) であるのかなどの詳細については、まだ明らかにされていない。おそらく、 γ/δ 型 T 細胞の種類によりさまざまあるのであろう。マイコバクテリアの hsp65 に反応性を示す新生児胸腺細胞由来の γ/δ 型 T 細胞ハイブリドーマが、外から加え

表 3 熱ショック蛋白と複合体を形成する蛋白

hsp70	hsp90	hsp60
クラスリン被覆小胞	ステロイドホルモン受容体	λ ファージカラー蛋白
プレプロ- α -ファクター	チロシンキナーゼ	RuBisCo
核小体蛋白	eIF-2 α キナーゼ	チトクローム C
IgG 重鎖	酵母プロテインキナーゼ C	F1-ATP アーゼ
p53 腫瘍抗原	チュブリン	温度感受性変異蛋白
DNA 複製開始複合体	アクチン	
カルモジュリン		
SV40 T抗原		
マイクロチューブル		

表 4 熱ショック蛋白あるいは保存された蛋白と感染症における免疫反応

熱ショック蛋白	病原体	保存蛋白	病原体
hsp70	<i>Plasmodium falciparum</i> <i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Leishmania donovani</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Brugia malayi</i> <i>Onchocerca volvulus</i> <i>Mycobacterium leprae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i>	aldolase glyceraldehyde- 3-phosphate dehydrogenase glutathione S-transferase myosin cathepsin B	<i>Plasmodium falciparum</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Schistosoma japonicum</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Schistosoma mansoni</i>
hsp60 (GroEL)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium leprae</i> <i>Coxiella burnetii</i> <i>Treponema pallidum</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Borrelis burgdorferi</i>	Mn superoxide dismutase cyclophilin	<i>Mycobacterium leprae</i> <i>Echinococcus granulosus</i>
hsp90	<i>Plasmodium falciparum</i> <i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Schistosoma mansoni</i>		
small hsps	<i>Schistosoma mansoni</i> <i>Mycobacterium leprae</i>		
GroES	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		

られた hsp65 に反応するのみではなく、ときとして自己刺激性 (self-stimulatory) であることが示され¹⁵⁾, hsp65 に共通抗原性を有するなんらかの自己抗原が存在すること、および場合によっては、この蛋白が T 細胞を刺激できるような形で細胞表面に発現されることを意味している。この点において γ/δ 型 T 細胞のみがマイコバクテリア hsp65 と交叉反応性を示す約 77 kD の蛋白を constitutive に細胞表面に発現しているとする報告は興味深い¹⁶⁾。

γ/δ 型 T 細胞は細胞障害性があり、皮膚や腸管

粘膜に多く存在しているために、first line of defence に関与していると考えられている。germ-line でコードされ、しばしば自己の抗原にも反応性を示す IgM 型の液性抗体と γ/δ 型 T 細胞に共通点が多いように思われるのも興味ある対比である。

熱ショック蛋白が、抗原提示に密接に関係している可能性を示す報告が Pierce らによりなされた¹⁷⁾。PBP (peptide-binding protein) という蛋白は、チトクローム c 分解産物の中で、抗原活性をもったペプチドに結合するが、分解を受けていな

い intact のチトクローム c とは結合しない。この PBP は細胞表面に発現されており、これに対する抗体はチトクローム c に特異的な T 細胞の活性化を抑制する。この蛋白の分布はマクロファージや B 細胞などの抗原提示細胞のみではなく、非常に幅広く分布している。

一般に、蛋白抗原がマクロファージに取り込まれ、ショートペプチドに分解されたあと、MHC に結合して細胞表面に運ばれてくる過程は現在あまり解明されていない。PBP はこの過程に関連した蛋白であると考えられたわけであるが、のちの研究で、この PBP が hsp70 に対する抗体と反応することが確かめられ¹⁸⁾、hsp70 の抗原提示における役割を推測させる事実であるといえる。これは hsp70 のもつ分子シャペロンとしての機能の一面をみているのかもしれない。

さらに一歩進んで、hsp そのものが抗原提示分子である可能性を示唆する報告もある。

Rippmann らは、遺伝子がクローニングされた 33 個の hsp70 のアミノ酸配列を比較検討することにより、hsp70 分子が実は構造的に HLA のクラス I 分子に非常によく似ていることを見出している¹⁹⁾。hsp は分子シャペロンとして機能している。すなわち、いろいろな分子に結合するわけであるから、結合するペプチド側のアミノ酸配列もさまざまであろう。この点でもいろいろなショートペプチドを結合する MHC 分子に似ている。hsp70 をコードする遺伝子が MHC のクラス III 領域に存在することが明らかとなった²⁰⁾。免疫系を制御する部位にその遺伝子が存在したということ自体は、免疫系での重要な役割を意味するものであるのかどうかはすぐには不明であるが、なかなか興味のもたれる事実である。

熱ショック蛋白が γ/δ 型を主とする T 細胞に抗原提示される様式としては、① 一般抗原のように MHC+ペプチドとして、② スーパー抗原として、③ 細胞表面に発現された熱ショック蛋白がそのまま intact な形で、④ 熱ショック蛋白が抗原提示分子としてこれに結合したペプチドを提示すること、などが考えられるが、もしも④の様式が実在するならば、後述する癌拒絶抗原を取り巻く問題も解決されるかもしれない。

熱ショック蛋白と自己免疫疾患動物モデル

(1) アジュバント関節炎

熱ショック蛋白が自己免疫疾患との関連でもっとも早くから注目を集めたのが、このアジュバント関節炎である。結核菌の菌体成分を含むアジュバント、すなわち完全アジュバントをある種のラットに注射すると、関節炎をつくり出すことができる(アジュバント関節炎)。このアジュバント関節炎発症ラットから Cohen らは、マイコバクテリアの抗原と反応する T 細胞ライン(A 2)を確立し、この T 細胞を放射線照射したラットに移入すると関節炎が生じることを報告²¹⁾した。

すなわち、アジュバント関節炎は T 細胞によりつくり出されることが示されたわけであるが、この A 2 を放射線照射していないラットに移入したところアジュバント関節炎はつくり出されず、むしろそのあとにアジュバントを投与しても関節炎発症に抵抗性を示した。この A 2 はさらにクローン化され、より強く関節炎を引き起こす A 2 b と関節炎抵抗性の A 2 c に二分化された。この A 2 b は、結核菌の菌体成分と反応性を示すわけであるが、同時に関節のプロテオグリカンとも交叉反応性を示すことが示され²²⁾、結核菌と関節成分との間の分子相同により関節炎が惹起されるというメカニズムが考えられた。

その後、A 2 の認識している結核菌の成分は hsp65 であることが明らかとなったので、精製した hsp65 によりアジュバント関節炎をつくることができるかどうか調べられた。しかし、予想に反して精製 hsp65 にはそのような関節炎惹起性はなく、むしろ引き続く完全アジュバント投与による関節炎を予防することができた。このことで、hsp65 とアジュバント関節炎の関係は大きく混乱した。不思議なことに、hsp65 による関節炎のこの予防効果は、アジュバント関節炎にとどまらず、まったく別の物質を用いた実験的関節炎、たとえばプリステインによる関節炎や溶連菌による関節炎においても認められることが示された²³⁾が、これは hsp の投与時期、投与方法、あるいは産生される抗体の性質に大きく影響されることも報告²⁴⁾されている。

クローン A 2 b の認識する hsp65 のエピートプは、アミノ酸 180~188 の 9 残基によりなるペプ

チドであった²⁵⁾。この部分はラットのプロテオグリカンそのものではなく、これに結合した link protein との間に軽微な相同性を認めるのみであり、またヒトの hsp60 との間には相同性を認めない。したがって、前述のような共通抗原性を有する自己の抗原の本体についても不明であるといわざるをえないし、分子相同(molecular mimicry)による発症のメカニズムについてもその証拠に乏しい。

(2) NOD

インスリン依存性糖尿病(insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM)は膵ラ氏島の β 細胞が自己免疫的に破壊されるためにインスリン欠乏状態となる、いわば臓器特異的な自己免疫疾患の代表例である。そのモデル動物として NOD マウスが有名であるが、このマウスの T 細胞が認識する β 細胞のターゲットがマイコバクテリアの hsp65 と交叉反応性を示す抗原(hsp65-CR)であることが報告された²⁶⁾。これによると β 細胞の破壊は hsp65 に特異性を有する T 細胞の出現と時間的に一致し、これが出現したあとに流血中に hsp65-CR, すなわち抗原そのものが検出されるようになった。さらにその数週後に抗 hsp65 抗体、抗インスリン抗体および抗インスリン抗体に対する抗イディオタイプ抗体が認められた。

糖尿病をいまだ発症していない若い NOD マウスに、hsp65 に特異性を有する T 細胞クローンを移入すると、ラ氏島炎を発症させうるといふ。また、hsp65 を免疫原性のある投与方法、すなわちアジュバントとともに注射すると糖尿病を早期に発症させうるし、リン酸緩衝液とともに注射する(この方法はしばしば免疫学的寛容をもたらすといわれている)と、自然発症の糖尿病の程度を非常に軽くすることができた。

ごく最近、同じグループからさらに詳しい研究成果が発表された²⁷⁾。これによると、マイコバクテリアの hsp65 に特異性のある糖尿病惹起性 T 細胞は、実はマイコバクテリアよりも自己の相同蛋白であるマウスの hsp60 に、より強く反応性を呈することが示された。そしてその主要な T 細胞エピトープは、アミノ酸配列で 458~474 に存在した。一方、前述のようにアジュバント関節炎における関節炎惹起性 T 細胞のエピトープは、マイコ

バクテリア hsp65 の 180~188 のアミノ酸部分に存在することが確認されており、この部分のアミノ酸配列は、糖尿病惹起性 T 細胞のエピトープとは異なっていた。また、hsp60 に反応性を示す T 細胞は、インスリン分泌顆粒の膜にも反応し、本来ミトコンドリアに存在する hsp60 の異所性発現が示唆されている。

NOD マウスにおける糖尿病の発症メカニズムと hsp の関係の研究は始まったばかりであり、T 細胞エピトープの抗原提示のされかた、あるいは T 細胞エピトープの臓器による発現量の差など多くの問題が残されている。また、ヒトの IDDM に対しては熱ショック蛋白の関与はないという報告²⁸⁾もみられ、この点についても、そう単純な話ではなさそうである。しかしながら、自己免疫疾患における特異的免疫療法の可能性をもっており、今後も注目すべき研究であろう。

(3) 実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)

EAE は myelin basic protein(BP)を Lewis rat のような感受性をもつラットに免疫することにより作成される多発性硬化症(multiple sclerosis, MS)の実験モデルとして知られている。

BP を不完全アジュバントとともに免疫した場合、BP に反応性を示す anti-BP T 細胞はつくり出されるが、結核菌の死菌、すなわち完全アジュバントの存在なくしては、活動性のある EAE はつくり出されない。そこで EAE の中枢神経への浸潤 T 細胞の中で、anti-BP や結核菌の主要抗原である hsp65 に対して反応する anti-hsp65 T 細胞がどの程度存在するかが限界希釈法(limiting dilution)により検討されたところ、anti-BP T 細胞のみならず anti-hsp65 T 細胞も、他の特異性をもつ T 細胞に比較して高密度に存在し、これらは抹消のリンパ組織中よりも中枢神経に濃縮されていた²⁹⁾。前述のごとく、anti-BP T 細胞のみでは EAE が発病せず、anti-hsp65 T 細胞が必要であるとすれば、anti-BP T 細胞による攻撃のあとに、これによる変化として hsp65 の発現が亢進し、これに対する anti-hsp65 T 細胞の反応が発病や炎症の維持に重要であるとも考えられる(二段階攻撃論)。

一方、中枢神経での熱ショック蛋白の発現は、

表 5 hsp60 と自己抗原の分子相同性

hsp60 上の部位	自己抗原	自己抗原上の部位	相同性スコア	疾患
1~ 17	myeloperoxidase	594~610	60	糸球体腎炎
7~ 21	cytochrome P450	359~372	64	慢性活動性肝炎
152~175	neurofilament triplet M protein	727~749	67	多発性硬化症
384~396	cardiac myosin heavy chain	136~148	65	Coxsackie ウイルス 心筋炎
391~405	glutamic acid decarboxylase	520~534	56	インスリン依存性 糖尿病
453~472	KU autoantigen	192~212	60	強皮症
552~572	heat shock protein	633~653	60	SLE
562~571	cytokeratin	545~554	81	慢性関節リウマチ

神経細胞では hsp70 が constitutive に発現されているが、神経膠細胞では constitutive な発現はないものの、hsp60 や hsp70 は誘導可能であることが判明している³⁰⁾。

ヒトの疾患

(1) 慢性関節リウマチ

アジュバント関節炎モデルにおける研究の一方で、ヒトのリウマチにおいても、この hsp60 の関与があるかどうかを精力的に調べられた。慢性関節リウマチ患者の関節液 T 細胞は、流血中の T 細胞と比較して、マイコバクテリア hsp65 や結核菌のアセトン沈澱物に対してより強く反応性を示し増殖した³¹⁾。

すなわち、マイコバクテリア hsp60 に反応する T リンパ球がリウマチ関節に集積していたが、このリンパ球を関節に引き付けている抗原はなんだろうか。これが結核菌そのものであることは考えにくい。直接的にこの抗原を証明するデータはいまのところ得られていないが、細胞にウイルス感染が生じた場合やインターフェロン γ による刺激後に hsp60 が細胞表面に発現されることが見出され、種を越えた相同性の高さなどから、自己の熱ショック蛋白が関与している可能性が高いと考えられている。

慢性関節リウマチ患者の関節での熱ショック蛋白の発現はどうなっているのだろうか。

マイコバクテリア hsp65 に対してつくられたマウスモノクローナル抗体を用いた研究では、マイコバクテリア hsp65 と交叉反応性を示す蛋白

が高濃度に慢性関節リウマチの軟骨/パンス接合部に認められたが、正常な組織や他の疾患による慢性の炎症を呈する組織においては認められなかったとの報告がある³²⁾。しかし一方では、反対の成績を示す報告も多く真偽のほどは明らかではない。

また最近、大腸菌の熱ショック蛋白である dnaJ と慢性関節リウマチの発病頻度が高いといわれている HLA Dw4 の超可変領域のアミノ酸配列において 11 アミノ酸残基が一致し、しかもこの部分が免疫原性をもつことが示され³³⁾興味深いが、この分子相同がどのようにしてリウマチの発症に連結しているのかは不明である。

(2) 多発性筋炎

一般的な多発筋炎においては、CD8 陽性の細胞障害性 T 細胞の筋組織への浸潤が特徴的であるとされているが、最近、Hohlfeld らは、CD4 陰性 CD8 陰性の γ/δ 型 T 細胞の浸潤が病変の主体である多発筋炎の存在を報告³⁴⁾している。一部の γ/δ 型 T 細胞が、熱ショック蛋白を認識することから、筋細胞における hsp65 (哺乳類細胞での相同蛋白は hsp60) の発現が調べられたところ、MHC のクラス I とともに非常に強い hsp65 の発現が確認された。しかしながら、報告された症例において、浸潤している γ/δ 型 T 細胞が筋細胞表面の熱ショック蛋白をターゲットにしているのかどうかは調べられていなかった。この形の筋炎の臨床的特徴として、ステロイドへの反応性が非常によいことがあげられていた。

(3) 川崎病, 高安病

川崎病においては, 急性期の血清中には存在しなかった hsp65 に対する抗体が回復期血清中には非常に高濃度に存在しているという報告がある。また, 約半数の患者において, γ/δ 型 T 細胞が末梢血中で増加しており, 末梢血 T 細胞の hsp65 に対する反応性の亢進も認められ, 熱ショック蛋白の深い関わりが示唆されている³⁵⁾。

高安病においても, 血管炎の局所で hsp65 の発現の亢進と γ/δ 型 T 細胞の組織浸潤が報告されている。高安病ではツ反の亢進など結核との関連が以前より想定されてきており, 興味深い所見である。

(4) 熱ショック蛋白と自己抗原の分子相同性

熱ショック蛋白と自己免疫疾患の密接な関係を示す一つの側面として, 自己抗原と熱ショック蛋白, とりわけ hsp60 との分子相同性をあげることができる。実に多くの自己抗原が hsp60 と相同性を示す部分がある分子内に存在することが明らかとなったが³⁶⁾, そのうちのいくつかを表 5 に列挙した。これらに含まれる疾患としては, 臓器特異的自己免疫疾患から全身的自己免疫疾患まで実にさまざまである。ある種の細菌が感染することによって免疫原性の強い細菌の hsp60 に対する抗体が産生されるが, これは高い相同性のために宿主の hsp60 とも交叉反応してしまう。抗体が結合した hsp60 は, 抗原提示細胞に, より効率よく取り込まれるために抗体産生が強くなり過ぎてしまう。

hsp60 のさまざまな部分に自己抗原との相同性が認められるが, どの部分が提示されるかは, 個人個人の HLA などが大きく係わっていることが推定される。

(5) 熱ショック蛋白と腫瘍免疫

発癌物質を用いて作製された癌細胞には, 用いられた発癌物質に特異的な抗原が癌細胞表面に発現される。この癌細胞を同系のマウスに免疫すると, 同じ腫瘍の移植に対して抵抗性を示すようになるが, 他の化学物質による癌細胞やウイルスにより癌化された細胞に対しては拒絶反応を示さない。これに関連した抗原は, 腫瘍特異的移植抗原 (tumor specific transplantation antigen) とよばれている^{37,38)}。いくつかのグループからこの抗原が純化され, 生化学的な検討が加えられたところ,

hsp90 グループの蛋白と相同性が高い (Gp96) ことが確認された³⁹⁾。

熱ショック蛋白は, 細菌から哺乳類細胞にいたるまで幅広く分布し, アミノ酸配列の相同性も高いものである。このような蛋白がいかにして個々の癌に特異的な抗原性を発揮するのか説明が難しい。真の腫瘍特異的移植抗原が熱ショック蛋白と結合して細胞表面に発現され, T 細胞に提示されているのか, あるいは小胞体に存在している Gp96 に腫瘍特異的移植抗原が結合しており, これがさらに MHC のクラス I に引き渡される途中にあると考えるとわかりやすい。

(6) 免疫原性と保存性

種を問わず保存され, 相同性の高い熱ショック蛋白に非常に強い免疫原性が存在するということはなかなか受け入れがたい。保存された蛋白は自己と非自己の区別があまりなく, したがって, 免疫原性が低いのが一般的な考え方である。これについて, Coutinho⁴⁰⁾ あるいは Cohen & Young¹²⁾ らの仮説を紹介する。

免疫学的寛容のメカニズムとして現在一般的に受け入れられている考えかたは, clonal deletion あるいは clonal anergy である。T 細胞の個体発生の初期において, 自己の抗原に強く反応するクローンが胸腺で抹殺されたり, 教育を受けたりして自己抗原との反応性をなくしてしまう。

これに対して, Coutinho や Cohen & Young らの考え方は異なっており, 主要な自己抗原(すべての自己抗原に対してではない)に対しては, これと反応する T 細胞が生体内に常に存在し, 自己抗原からの刺激を受け活性化されている(この点で anergy でもない)が, この細胞の機能を調節している他の T 細胞の影響のために自己免疫エフェクター機能が発揮されないでいるといういわばネットワーク説であって, けっしてクローンは失われてはおらず, むしろ常に刺激を受けている。以下の五つの細胞成分がこのネットワークを構成している。

① 自己抗原に反応し自己免疫現象を直接引き起こす自己免疫エフェクター T 細胞

② この周りに存在し, 自己抗原に反応性を有し, しかも①をヘルプする抗原特異的ヘルパー T 細胞

③ 自己抗原に反応性を有し①を抑制する抗原特異的サプレッサーT細胞

④ 自己抗原の関与なしに①～③の細胞の機能をヘルプする抗イディオタイプヘルパーT細胞

⑤ 抗イディオタイプサプレッサーT細胞

①～③の細胞は常に自己抗原の刺激を受け活性化されているが、正常の場合には、ネットワークあるいはこれらの細胞間のよい連結性(well-connected)のために細胞①のエフェクター機能は抑えられている。

常に免疫系を刺激している自己抗原には表4に示すような相同性の高い蛋白があげられる。さまざまな病的状態で自己免疫現象は認められるものの、多くは一過性である。たとえば、心筋梗塞後の多くの患者において、主要な自己抗原の一つとして表5にもあげられているミオシンに対し自己免疫現象が認められるが、ネットワークがよい連結性である限りは一過性に終わり、致命的な心筋炎に至ることはほとんどない。

したがって、免疫系は、① 対象が主要な自己抗原であり、細胞同士が well-connected のネットワークにあるものと、② 細胞同士に上記のような連結性(connection)がなく、外来抗原に対し積極的にこれを排除しようとするもの(いわゆる外来抗原に対する通常の免疫)に二分できる。同様の考えかたはB細胞による自己免疫系の制御にも適用され、natural autoantibody を産生するといわれている CD5+ B細胞が中心的役割を果たしている。この場合も、前述のような相同性の高い抗原や SLE の自己抗原(これも種差が少なく相同性が高い)が natural autoantibody の主要なターゲットであり、こういった自己抗原は built-in bias として選ばれているものであって、必ずしも自己感作を必要とするものではない。細菌感染症などが生じた場合に、これらの細菌に存在する自己と同一のエピトープを natural autoantibody はブロックし、自己の抗原に対して免疫応答が強く起こることを防ぐと同時に、相同性の少ない細菌独自の抗原エピトープを免疫系に対し前面に押し出す働きをもっている(図2¹²⁾)。

このように、T細胞系もB細胞系も自己の抗原により常に刺激を受けているが、自己免疫エフェクター機能が低レベルにとどまっているのは、免

図2 細胞相互の連結性の違いによる免疫系の二分化

自己抗原により常に刺激を受け、これに反応するクローンも存在するがネットワーク(well-connected)のためにエフェクター機能が制御されている上段(点線により囲まれた部分)と、このようなネットワークの明らかなでない(unconnected)外来抗原に対する免疫系の二つにわけられる。自己を認識しつづけ、ある程度活性化されつづけることこそが免疫学的寛容をもたらすとする考えかたである。

疫ネットワークの正常の連結性があるためである。この連結性が失われれば、自己免疫エフェクターが動きはじめ自己免疫疾患が発症する。したがって、自己免疫疾患の治療の目標は免疫ネットワークの正常の連結性を回復することであり、これには T cell vaccination が有効であろうし、免疫ネットワークにおける連結性の少ない一般の外来抗原に対する免疫の増強は、その抗原独自のエピトープによる vaccination が有効である。

熱ショック蛋白の中で特に免疫原性が高いのは hsp60 であり、これはミトコンドリアに局在している。ミトコンドリアはもともと細菌由来である可能性があり、このことと免疫原性の高さとの間になにか関連があるのだろうか。

(7) 普遍性と臓器特異性

熱ショック蛋白を取り巻くもう一つの不思議な点は、普遍性と臓器特異性である。冒頭にも述べたように、熱ショック蛋白は体の中のほとんどの細胞に備わっている普遍性をもった蛋白である。こういった細胞の生存に不可欠な普遍性をもった蛋白に対する免疫反応で、全身性エリテマトーデ

スのような systemic autoimmunity はともかく臓器特異的自己免疫現象をどのように説明することができるだろうか。同じ MHC をもった個体のなかで臓器により提示されるエピトープが異なることは考えられない。anti-hsp T細胞が産生される過程と臓器特異的な障害により熱ショック蛋白の細胞表面発現に臓器ごとの差が出る過程の二つを考えざるをえないのではないだろうか。

たとえば、細菌感染その他の理由で anti-hsp T細胞が強く産生された個体において、膵臓好性のウイルス(そのようなものが存在すればではあるが)感染が起き、膵β細胞での熱ショック蛋白の発現が亢進し、その結果 MHC のクラス I あるいはその他とともに熱ショック蛋白が細胞表面に多く発現されてきたときに、anti-hsp T細胞による臓器特異的な障害が生じると考えてみてはどうだろうか(二段階攻撃論)。

おわりに

細胞生物学的興味のみならず臨床疾患との関連においても、熱ショック蛋白はさまざまな領域で注目を集めており、さらに急速に広がりつつある。それはこの蛋白が普遍的に存在し保存された蛋白であるにもかかわらず免疫原性が強いことによるが、強い免疫原性のある細菌のエピトープが宿主の熱ショック蛋白にも存在し、分子相同(molecular mimicry)により発病に関係しているという証拠にあまり乏しく、fascinating であると同時に frustrating な領域でもある。

文 献

- 1) 細川暢子, 永田和宏: Heat Shock Protein と免疫応答. 臨床免疫 23: 1339, 1991.
- 2) Smiley, J. D., Hoffman, W. L.: Southwestern internal medicine conference: The role on infections in the rheumatic diseases: Molecular mimicry between bacterial and human stress proteins?. Am. J. Med. Sci. 301: 138, 1991.
- 3) Schlesinger, M. J.: Heat Shock Proteins. J. Biol. Chem. 265: 12111, 1990.
- 4) 宮田愛彦, 矢原一郎: HSP90 ファミリーの構造と機能. 実験医学 7: 2001-2008, 1989.
- 5) Baulieu, E. E.: Contragestation and other clinical applications of RU 486, an antiprogesterone at the receptor. Science 245: 1351, 1989.
- 6) Koyasu, S., Nishida, E., Kadowaki, T. et al.: Two mammalian heat shock proteins, HSP90 and HSP100, are actin-binding proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 8054, 1986.
- 7) Ungewickell, E.: The 70-kd mammalian heat shock proteins are structurally and functionally related to the uncoating protein that releases clathrin triskelia from coated vesicles. EMBO J. 4: 3385, 1985.
- 8) Hirayoshi, K., Kudo, H., Takechi, H. et al.: A tissue-specific, transformation-sensitive, collagen-binding heat shock protein of chick embryo fibroblasts. Mol. Cell Biol. 11: 4036, 1991.
- 9) Kageyama, H., Hiwasa, T., Tokunaga, K. et al.: Isolation and characterization of a complementary DNA clone for a Mr32000 protein which is induced with tumor promoters in BALB/c 3T3 cells. Cancer Res. 48: 4795, 1988.
- 10) Thole, J. E., van Schooten, W. C., Keulen, W. J. et al.: Use of recombinant antigens expressed in Escherichia coli K-12 to map B-cell and T-cell epitopes on the immunodominant 65-kilodalton protein of Mycobacterium bovis BCG. Infect. Immun. 56: 1633, 1988.
- 11) Young, D., Lathigra, R., Hendrix, R. et al.: Stress proteins are immune targets in leprosy and tuberculosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 4267, 1988.
- 12) Cohen, I. R., Young, D. B.: Autoimmunity, microbial immunity and the immunological homunculus. Immunol. Today 12: 105, 1991.
- 13) Holoshitz, J., Koning, F., Coligan, J. E. et al.: Isolation of CD4-CD8-mycobacteria-reactive T lymphocyte clones from rheumatoid arthritis synovial fluid. Nature 339: 226, 1989.
- 14) Haregewoin, A., Soman, G., Hom, R. C. et al.: Human γ/δ +T cells respond to mycobacterial heat-shock protein. Nature 340: 309, 1989.
- 15) O'Brien, R. L., Happ, M. P., Dallas, A. et al.: Stimulation of a major subset of lymphocytes expressing T cell receptor γ/δ by an antigen derived from Mycobacterial tuberculosis. Cell 57: 667, 1989.
- 16) Jarjour, W., Mizzen, L. A., Welch, W. J. et al.: Constitutive expression of a gro-EL-related protein on the surface of human $\gamma\delta$ cells. J. Exp. Med. 172: 1857, 1990.
- 17) Lakey, E. K., Margoliash, E., Pierce, S. K.: Identification of a peptide binding protein that plays a role in antigen presentation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 1659, 1987.
- 18) Vanbuskirk, A., Crump, B. L., Margoliash, E. et al.: A peptide binding protein having a role in antigen presentation is a member of the hsp70 heat shock family. J. Exp. Med. 170: 1799, 1989.
- 19) Rippmann, F., Taylor, W. R., Rothbard, J. B. et al.: A hypothetical model for the peptide binding domain of hsp70 based on the peptide binding domain of HLA. EMBO J. 10: 1053, 1991.
- 20) Sargent, C. A., Dunham, I., Trowsdale, J., et al.: Human major histocompatibility complex contains

- genes for the major heat shock proteins hsp70. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 : 1968, 1989.
- 21) Holoshitz, J., Naparstek, Y., Ben-Nun, A. et al. : Lines of T lymphocytes induce or vaccinate against autoimmune arthritis. *Science* 219 : 56, 1983.
- 22) Van Eden, W., Holoshitz, J., Nevo, Z. et al. : Arthritis induced by a T-lymphocyte clone that respond to *Mycobacterium tuberculosis* and to cartilage proteoglycans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 : 5117, 1985.
- 23) Van den Broek, M. F., Hogervorst, E. J., van Bruggen, M. C. et al. : Protection against streptococcal cell wall-induced arthritis by pretreatment with the 65-kD mycobacterial heat shock protein. *J. Exp. Med.* 170 : 449, 1989.
- 24) Thompson, S. J., Butcher, P. D. et al. : Modulation of pristane-induced arthritis by mycobacterial antigens. *Autoimmunity* 11 : 35, 1991.
- 25) Van Eden, W., Thole, J. E., van der Zee, R. et al. : Cloning of the mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis. *Nature* 331 : 171, 1988.
- 26) Elias, D., Markovits, D., Reshef, T. et al. : Induction and therapy of autoimmune diabetes in the non-obese diabetic (NOD/Lt) mouse by a 65-kDa heat shock protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 1576, 1990.
- 27) Elias, D., Reshef, T., Birk, P. S. et al. : Vaccination against autoimmune mouse diabetes with a T cell epitope of the human 65-kDa heat shock protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 : 3088, 1991.
- 28) Atkinson, M. A., Holmes, L. A., Scharp, D. W. et al. : No evidence for serological autoimmunity to islet cell heat shock proteins in insulin dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 87 : 721, 1991.
- 29) Mor, F., Cohen, I. R. : T cells in the lesion of experimental autoimmune encephalomyelitis : Enrichment for reactivities to myelin basic protein and to heat shock proteins. *J. Clin. Invest.* 90 : 2447, 1992.
- 30) Georgopoulos, C., McFarland, H. : Heat shock proteins in multiple sclerosis and other autoimmune diseases. *Immunol. Today* 14 : 373, 1993.
- 31) Res, P. C., Breedveld, F. C., van Embden, J. D. A. et al. : Synovial fluid T cell reactivity against 65 kD heat shock protein of mycobacteria in early rheumatoid arthritis. *Lancet* 2 : 478, 1988.
- 32) Karlsson-Parra, A., Soderstrom, K., Ferm, M. et al. : Presence of human 65 kD heat shock protein (hsp) in inflamed joints and subcutaneous nodules of RA patients. *Scand. J. Immunol.* 31 : 283, 1990.
- 33) Albani, S., Tuckwell, J. E. L. et al. : The susceptibility sequence to rheumatoid arthritis is a cross-reactive B cell epitope shared by the *Escherichia coli* heat shock protein dnaJ and the histocompatibility leukocyte antigen DRB 10401 molecule. *J. Clin. Invest.* 89 : 327, 1992.
- 34) Hohlfeld, R., Engel, A. G., Li, K. et al. : Polymyositis mediated by T lymphocytes that express the γ/δ receptor. *N Engl. J. Med.* 324 : 877, 1991.
- 35) Yokota, S. : Heat shock protein as a predisposing and immunopotentiating factor in Kawasaki disease. *Acta Paediatrica Jpn.* 33 : 756, 1991.
- 36) Jones, D. B., Andrew, F. W., et al. : Sequence homologies between hsp60 and autoantigens. *Immunol. Today* 14 : 115, 1993.
- 37) Dubois, G. C., Law, L. W., Appella, E. : Purification and biochemical properties of tumor-associated transplantation antigens from methyl-cholanthrene-induced murine sarcomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 : 7669, 1982.
- 38) Srivastava, P. K., Deleo, A. B., Old, L. J. : Tumor rejection antigens of chemically induced sarcomas of inbred mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 : 3407, 1986.
- 39) Maki, R. G., Old, L. J., Srivastava, P. K. : Human homologue of murine tumor rejection antigen gp96 : 5'-Regulatory and coding regions and relationship to stress-induced proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 5658, 1990.
- 40) Coutinho, A. : Beyond clonal selection and network. *Immunol. Rev.* 110 : 63, 1989.