慢性関節リウマチ滑膜病態形成における ケモカインと接着分子のクロストーク

田中良哉*

review article

JAPANESE JOURNAL OF INFLAMMATION

Crosstalking between chemokines and adhesion molecules in the pathogenesis of rheumatoid arthritis

Rheumatoid arthritis(RA) is characterized by marked infiltration of the synovium by T cells. The mediator of joint inflammation has been shown to be both cellular and soluble mediated by multiple cytokines including chemokines. The concept of the crosstalking between adhesion molecules and cytokines and its relevance to inflammation is emerging.

Expression and function of adhesion molecules are tightly regulated via intracytoplasmic signaling induced by cytokine or chemokine stimulation, which process is designated "inside-out signal". Such a regulation is most emphasized with inflammatory processes, in which T cells migrate from circulation into the tissue. T cell migration depends on integrin-mediated adhesion to endothelial ligands. Endothelial cells in RA synovium characteristically express heparan sulfate proteoglycan, which is involved in T cell integrin-triggering by "posting" chemokines, produced from synovial T cells, and by "relaying" them to their receptors on T cells which activate G-protein-dependent PI 3-kinase and actin-dependent integrin-triggering.

Adhesion molecules not only function as a glue but also transduce extracellular information into cytoplasmic organelle through "outside-in signal", resulting in cell activation and cytokine production. For instance, the abundant ICAM-1 and CD 44 on RA synoviocytes not only potentially facilitate interaction to T cells or extracellular matrix but induce cytokine gene transcription in synoviocytes via nuclear factor activation.

Taken together, the busy two directional crosstalking among adhesion molecules and cytokines appears to be significant for the initiation and prolongation of inflammatory processes through T cell migration into RA synovial tissues and activation of both T cells and synovial cells there.

Rec. 2/2/2000, pp 107~117

Yoshiya Tanaka*

key words : adhesion, integrin, chemokine, rheumatoid arthritis, signal

* The First Department of Internal Medicine, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, Japan 産業医科大学医学部第一内科学教室
Offprint requests to : Yoshiya Tanaka, The First Department of Internal Medicine, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, Japan, 1-1 Iseigaoka, Yahata-nishi, Kitakyushu, 807-8555 Japan

慢性関節リウマチ (rheumatoid arthritis ; RA) は、関節を病変の主座とする原因不明の全身性炎症性疾患であるが、発熱や全身倦怠感などの全身症状や、肺などの関節外臓器の症状を伴うこともある。関節滑膜では、血管新生、T細胞の浸潤と活性化、滑膜細胞の増殖を中心とする急性ないし慢性の滑膜炎が展開し、炎症性肉芽組織(パンス

図1 RA滑膜炎症部へのT細胞の遊出におけるケモカインによるインテグリンの活性化とインテグリン依存性接着の誘導機構

ス)は肥大して疼痛を伴う著しい炎症所見を呈し、パンヌスの進展に伴い軟骨・骨吸収と関節破壊が認められ、日常生活動作が制限される。

RAはまた、代表的な自己免疫疾患である。滑膜炎症部に集積するT細胞の大部分は、抗原感作を受けたメモリーT細胞であり、特定の自己反応性クロナリティを有するT細胞はRAの病因としての意義を有する¹⁾。RA滑膜炎組織で認められるT細胞の集積は、T細胞が組織内へ大量に遊出した結果である。筆者らは、T細胞がどのような機構で末梢循環血中から滑膜組織内遊出するか、滑膜組織内で滑膜細胞といかに相互作用を及ぼし合うかについて、特にケモカインと細胞接着分子の調節機構(クロストーク)に注目して検討を重ねてきた²⁾。

T細胞の血管内からRA滑膜組織への遊出の機構

末梢血管内を循環するT細胞は、主に後毛細管細静脈の血管内皮細胞との間で接着のステップ(接着カスケード)を経て組織へ遊出する(図1)³⁾。循環血中のT細胞はセレクトインのレクチン様ドメインとシアロムチンの糖鎖との接触により

ブレーキがかかり一時的に血管内腔にとどまる(tethering)。これは、一時的なon-offの速い接触にすぎず、T細胞のインテグリンは、ケモカインなどによって血管内腔にtetherする瞬時に活性化されて接着性を獲得する(triggering)。その結果、T細胞のLFA-1やVLA-4などのインテグリンファミリーに属する接着分子と内皮細胞上のICAM-1やVCAM-1などの免疫グロブリンスーパーファミリー(IgSF)に属する接着分子との結合により接着が完成する(adhesion)。接着したT細胞はCD31やICAM-1などの分子の関与により内皮細胞間隙を移行して血管外へ遊出する(transmigration)。かような接着カスケードは、好中球、好酸球、単球と内皮細胞との接着や血小板の内皮上での凝集などにおいても適応される。

RA滑膜炎症組織では、主に滑膜細胞からIL-1やTNF- α などの炎症性サイトカインが大量に産生され、内皮細胞上の接着分子ICAM-1、VCAM-1、E-セレクトインの発現は、これらのサイトカイン刺激により伝達される細胞内シグナルにより誘導・増強される。その結果、循環血中のT細胞との接着の機会が増えることにより炎症部への浸潤が効率よくもたらされる⁴⁾。

図2 ケモカインによるT細胞とRA滑膜由来血管内皮細胞とのインテグリン依存性接着の誘導

一方、T細胞と血管内皮細胞との接着機構において中心的役割を担うT細胞のインテグリンは、活性化されないで接着できない⁵⁾。筆者らは、RA滑膜より血管内皮細胞を抽出し、T細胞との接着を検討したところ、T細胞は無刺激下では内皮細胞と接着できないが、T細胞インテグリンに選択的に接着性を誘導するケモカイン macrophage inflammatory protein(MIP)-1 α とMIP-1 β を添加すると高率に接着した(図2)。その過程において以下の三つの点を明らかにした²⁾。第一に、RA滑膜炎組織より抽出したT細胞は、無刺激下でケモカインMIP-1 α とMIP-1 β を産生することを認めた。第二に、MIP-1 α とMIP-1 β は、短時間内にT細胞のインテグリンを活性化し、G蛋白質依存性 phosphoinositide 3キナーゼ(PI3K)および、細胞内骨格依存性のインテグリンの重合化や立体構造の変化が活性化に関与した。第三に、RA滑膜細胞より抽出した血管内皮細胞は、臍帯などから得られたものと異なり、ヘパラン硫酸プロテオグリカン特徴的に高発現することが観察され、T細胞とRA滑膜由来血管内皮細胞との接着は、MIP-1 α とMIP-1 β を内皮細胞上のヘ

パラン硫酸に固相することにより効率的に誘導されることを接着実験で認めた。免疫組織所見でも、MIP-1 α とMIP-1 β 、および、ヘパラン硫酸が滑膜組織内の微小血管に高発現することが確認された。

ケモカインによるインテグリンの活性化機構

インテグリンは、 $\alpha\beta$ 鎖から構成される膜通過型糖蛋白質で、赤血球以外の細胞の膜表面に発現し、ICAM-1やVCAM-1などの細胞膜上のIgSF分子、およびフィブロンectinやラミニンなどの細胞外基質に対する主要なレセプターである。インテグリンは、2価金属陽イオン依存性にリガンドと接着するが、その接着性は細胞内情報により制御される。すなわち、インテグリンは発現するだけでは接着できず、インテグリンを介する細胞接着性の誘導においては、細胞内の刺激によってインテグリンが活性化されることが必須である。インテグリンのもっとも強力な活性化分子として、C-キナーゼを活性化するphorbol myristate acetate(PMA)や細胞内Ca²⁺レベルを上昇させるCaイオノフォアがあげられる(表1)。細胞表面

表 1 インテグリンの活性化に関する分子群

分子名	反応細胞
薬理学的物質	
PMA (phorbol myristate ester)	すべての白血球
calcimycin	T 細胞
細胞表面機能分子	
CD 3/TCR (T cell receptor) complex	T 細胞
CD 2	T 細胞, NK 細胞
CD 28	T 細胞
CD 31 (PECAM-1)	T 細胞, NK 細胞, 単球
CD 19	B 細胞
surface Ig (immunoglobulin)	B 細胞
β_1 integrin ; CD 29	T 細胞, B 細胞, 単球など
β_3 integrin ; CD 61	血小板など
α (C-X-C)-chemokine	
IL-8 (interleukin-8)	好中球, 好塩基球
IP-10 (γ -interferon-induced peptide)	単球, 活性化 T 細胞
PF-4 (platelet factor-4)	血小板
Mig (monokine induced by IFN- γ)	単球, 活性化 T 細胞
ENA-78 (epithelial-derived neutrophil attractant-78)	好中球
β (C-C)-chemokine	
MIP-1 α (macrophage inflammatory protein)	T 細胞サブセット, 単球
MIP-1 β	T 細胞サブセット, 単球
RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted)	T 細胞サブセット, 単球, 好酸球
MCP-1,3 (monocyte chemotactic protein)	単球, 好塩基球, 好酸球
eotaxin	好酸球
LARC (liver and activation-dependent chemokine)	T 細胞サブセット
SLC (secondary lymphoid-tissue chemokine)	T 細胞サブセット
CX ₃ C-chemokine	
FKN (fractalkine)	T 細胞, 単球, NK 細胞
成長因子	
SCF (stem cell factor, c-Kit ligand)	マスト細胞
HGF (hepatocyte growth factor, c-Met ligand)	T 細胞サブセット
その他	
fMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine)	好中球, 単球, 好酸球, 好塩基球
thrombin	血小板
C 5 a (fifth complement component)	好中球
oxidized LDL (low density lipoprotein)	単球
PAF (platelet-activating factor)	血小板, 単球, 好中球, 好酸球

の CD 3/TCR 複合体, CD 28, CD 31, インテグリンなどを介する刺激もインテグリンを活性化する^{5,6)}。筆者らは, MIP-1 β や MIP-1 α などのケモカイン刺激によってもインテグリンが活性化されることを報告した⁷⁾。

ケモカインは, 細胞遊走活性 (chemotaxis) を有する cytokine として命名され, IL-8 に代表される α (CXC) ファミリー, MIP-1 などの β (CC) ファミリー, 膜結合型の fractalkine (CX₃C) に分

類される 50 以上のサイトカインを含むファミリーの総称である⁸⁾。ケモカインは, 以下のような多彩な特性を有するサイトカインである。① 大部分のケモカインは, 静止期細胞や正常組織からはほとんど産生されないが, 炎症部やリンパ組織の活性化 T 細胞やマクロファージから大量に産生され, 炎症病態形成に中心的に関与する。② 生物活性として走化性のみならず, インテグリンの活性化を介する細胞接着の誘導能, リゾチームや活

図3 ケモカインによるインテグリンの活性化情報伝達機構：情報伝達蛋白質，細胞質内蛋白質と細胞内骨格の役割

性酸素の産生能などを有す。③ 標的細胞は，レセプターの発現様式に基づくサブセット特異性がある。④ レセプターは多彩だが，いずれも G 蛋白質結合性レセプターファミリーに属し，細胞内情報伝達に直接関与する。⑤ ヘパリン結合部を介してヘパラン硫酸プロテオグリカンと結合する。⑥ ケモカイン，そのレセプターとも HIV 感染と緊密な関連性がある。

インテグリン活性化の情報伝達機構

In vitro では，PMA や MIP-1 β 刺激によって伝達される細胞内シグナルは，インテグリンの発現量を変えずに，T 細胞のインテグリンを活性化し，ICAM-1 や VCAM-1 への接着を 15 分以内に誘導する⁷⁾。ケモカインを含む遊走活性因子のレセプターの多くは七つの細胞膜通過部位を有する G 蛋白質共役型 “serpentine” レセプターファミリーに属し，これらの遊走活性因子はレセプターに結合することによって，会合する G 蛋白質をリン酸化し，phospholipase C (PLC)- β 2 の活性化などを介して，PI 3 K を会合して活性化シグナルを伝達する⁹⁾。実際，MIP-1 α や MIP-1 β 刺激に

よって誘導される T 細胞の血管内皮細胞上のリガンドとのインテグリン依存性の接着は，非共役型 G 蛋白質である百日咳毒素や PI 3 K 阻害剤である wortmannin や LY 294002 で細胞を処理すると減弱する¹⁰⁾。

インテグリンの活性化は，インテグリンの細胞内ドメインに会合する細胞内骨格蛋白質に依存性のインテグリンの細胞外立体構造の変化による affinity の増強，多量体化による avidity の増強，両者が組み合わさった clustering によって誘導される¹¹⁾。インテグリンの多量体化や細胞外立体構造の変化には，細胞内骨格蛋白質である F-actin が重合化することが必要とされる。MIP-1 α や MIP-1 β は，T 細胞インテグリンの細胞内成分に会合する F-アクチンの重合化や再構成を 30 秒以内に引き起こし，インテグリンを活性化し内皮細胞との接着を誘導する¹⁰⁾。F-アクチンの重合化は，プロフィリンなどの細胞質内蛋白質が ADP-アクチンを ATP-アクチンに変換することによってもたらされる。

最近，プロフィリンが PIP₂ や PI 3 K と会合し，情報伝達にも関与することが報告された。筆者ら

表 2 ケモカインとケモカインレセプター

レセプター	ケモカイン	レセプターの主な発現細胞
CCR 1	MIP-1 α , RANTES, HCC 1~4	単球, T 細胞
CCR 2 a, b	MCP-1~4	単球, T 細胞, 好塩基球, NK 細胞
CCR 3	eotaxin 1~3, RANTES, MCP-3	好酸球, 好塩基球, Th 2 細胞
CCR 4	TARC, MDC	T 細胞, NK 細胞, 樹状細胞
CCR 5	RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β	単球, T 細胞, 樹状細胞, Th 1 細胞
CCR 6	MIP-3 α , LARC	T 細胞, 樹状細胞
CCR 7	MIP-3 β , ELC, TCA-4	T 細胞, 単球, 樹状細胞
CCR 8	TARC, I 309	Th 2/Tc 2 細胞, 単球
CCR 9	TECK	
CXCR 1	IL-8, GCP-2	好中球
CXCR 2	IL-8, GRO, NAP-2, ENA-78	好中球, NK 細胞
CXCR 3	IP-10, Mig, ITAC	Th 1/Tc 1 細胞
CXCR 4	SDF-1 α , β	白血球全般?
CXCR 5	BCA-1	B 細胞
XCR 1	lymphotactin, SCM-1 α	
XCR 2	SCM-1 β	
CX 3 CR 1	FKN	単球, NK 細胞, T 細胞

は, T 細胞において, プロフィリンと重合化した F-アクチンとの局在が一致すること, 百日咳毒素や wortmannin で前処理すると, プロフィリンが分散して F-アクチンの重合化が阻害されることを認めた¹⁰⁾. さらに, T 細胞や B 細胞において, ケモカイン刺激や低分子量 GTPase ファミリー分子である H-Ras の遺伝子導入により PI 3 K の活性化を介してプロフィリン依存性の骨格線維アクチンの重合化がもたらされ, LFA-1 が NKI-L 16 抗体で認識される接着可能な活性エピートプへ変換され, リガンドや血管内皮細胞とのインテグリン依存性の接着親和性が誘導されること, ケモカイン刺激により常時インテグリンが活性化されている T 細胞性白血病細胞に, H-Ras の dominant negative 変異体を遺伝子導入すると, プロフィリンを介したアクチンの重合化やインテグリンの活性化が抑制されることを認めた^{10,12,13)}. 他施設からも R-Ras, H-Ras, Rho A などの低分子量 G 蛋白質がインテグリン接着性の誘導へ関与すると報告され^{14)~16)}, ケモカイン刺激を介するシグナルは, これらの低分子量 G 蛋白質依存性の PI 3 K の活性化とそれに引き続くプロフィリンによる F-アクチンの重合化を誘導し, インテグリン依存性の接着を誘導するものと思わ

れる(図 3).

ケモカインの炎症病態形成における意義

MIP-1 α や MIP-1 β による T 細胞のインテグリン活性化の報告につづき, ケモカインの多くは, 遊走活性以外にもインテグリンの活性化を介する細胞接着の誘導機能を有することが明らかとなった. Regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted(RANTES)や fractalkine(FKN)はメモリー T 細胞に, secondary lymphoid-tissue chemokine(SLC)は CCR 7 を介してナイーブ T 細胞に, monocyte chemotactic protein(MCP)-1 は単球に, interleukin(IL)-8 は好中球に, FKN は NK 細胞に, platelet factor(PF)-4 は血小板にインテグリンの活性化と内皮細胞との接着や凝集を誘導する⁴⁾.

なぜ T 細胞が炎症部へ集積しうるかを考える際, T 細胞上のインテグリンの接着性の誘導は重要な意味を有する. インテグリンに活性化が不要とするならば, T 細胞は正常組織内へつぎつぎと非選択的に遊出してしまうはずである. 前述のように, 大部分のケモカインは静止期の細胞や正常組織からは産生されないが, 特に炎症部に存在する

活性化リンパ球などから大量に産生される。炎症部で大量に産生されたケモカインによる循環血中の T 細胞のインテグリンの活性化と、内皮細胞との接着、それに引き続く組織内への遊出を効率的に誘導することによって炎症形成と重要な関連性を有する。もちろん、このようなケモカイン刺激によるインテグリン依存性の細胞接着の誘導は、T 細胞などの白血球と抗原提示細胞、上皮細胞、間質細胞、滑膜細胞、平滑筋細胞など、組織内のその周囲に存在する細胞や細胞外基質との接着の機構においても必要である。

ケモカインの細胞遊走活性やインテグリンの活性化機能は、レセプターの発現様式の相違に基づく白血球のサブセット特異性を有し、特定の炎症組織に特定の炎症性細胞を集積させて特異的炎症を誘導する際にケモカインは key role を担う(表 2)。たとえば、炎症早期部では IL-8 が産生されてまず好中球が内皮細胞と接着して浸潤する。RA 患者の滑膜組織中の T 細胞などから産生される MIP-1 α 、MIP-1 β や RANTES は T 細胞の滑膜組織内への集積をもたらすが、滑液中には IL-8 が大量に認められむしろ好中球が検出される²⁾。実際、滑膜組織内の T 細胞は、ケモカインレセプターのなかで CCR 5 をもっとも高発現する^{17,18)}。また、アレルギー性炎症部では eotaxin や MCP-3 が産生された結果これらに対するレセプター CCR 3 を発現する好酸球が集積し、動脈硬化性炎症部や糸球体腎炎組織では MCP-1 が単球の接着を誘導し同部位へ浸潤させる¹⁹⁾。

ケモカインの機能発現におけるヘパラン硫酸プロテオグリカンの役割

滑膜炎組織内より産生されたケモカインは、血管内の T 細胞上のインテグリン依存性の接着を誘導するが、生体内では、血管内腔に放出されたケモカインのような液性因子は血流により即時に流出されるはずであり、作用するに十分濃度が血管内腔に存在しうるかという疑問が生じる。ケモカインは、ヘパリン結合性サイトカインで、*in vivo* では細胞表面や細胞外基質のヘパラン硫酸プロテオグリカンと結合しうる。ヘパラン硫酸プ

ロテオグリカンはコア蛋白質とそれに結合する二糖類の連鎖するヘパラン硫酸側鎖よりなる分子群である。ヘパラン硫酸プロテオグリカンは、ヘパリン結合性サイトカインを結合することによって以下のようないくつかの利点をサイトカインに提供する。① サイトカインを炎症部の血管内皮細胞上や転移性癌細胞上などの必要な特定部位に集積させることができる。② サイトカインに活性型立体構造を誘導する。③ 血流によるずれ応力などの物理的刺激や組織内での消化酵素による分解などの化学的刺激から保護する。④ サイトカインのみならずそのレセプターなどの細胞表面分子と結合して、より強い情報伝達を可能とする立体構造を形成しうる^{20,21)}。

ヘパラン硫酸プロテオグリカンは、上皮系の細胞に発現するとされるが、炎症部の血管内皮細胞においても発現し、RA 患者の滑膜炎組織などの炎症部の血管内皮細胞上には大量に発現する。しかし、血管内皮細胞の実験で汎用する臍帯静脈由来内皮細胞には全く発現しない²⁾。*In vitro* では、T 細胞と RA 滑膜由来血管内皮細胞との接着は、MIP-1 α と MIP-1 β を内皮細胞上に固相化した際にはより強い接着が観察され、その接着は、内皮細胞をあらかじめヘパリチナーゼなどで酵素処理すると、認められなくなる。また、これらのケモカインは、リンパ節、扁桃組織や RA 患者滑膜の内皮細胞上に免疫組織染色により検出される。すなわち、ヘパラン硫酸プロテオグリカンは、ケモカインを固相(配置)し、血流により流出されことなく必要個所に集積させる。その結果、ケモカインは内皮細胞上に tether する T 細胞のレセプターに提示(転送)され、T 細胞インテグリンを活性化し内皮細胞との接着を効率よく誘導する。また、その結合は特異的であり、特定の場所で特定のケモカインに機能発現をもたらす²⁰⁾。このような細胞接着を介して発揮されるサイトカインの機能は、juxtacrine とよばれる(図 4)。以上、サイトカインは、本来流動性と拡散性を特性とするが、ヘパラン硫酸プロテオグリカンに結合することによって、必要個所に高濃度集積し、また、物理的・化学的刺激から保護されて、より効率的

図4 ケモカインによる juxtacrine T 細胞インテグリン刺激機構における RA 滑膜血管内皮細胞上のヘパラン硫酸プロテオグリカンの介在

に機能が誘導されうる。

T 細胞や RA 滑膜細胞における細胞接着を介するサイトカイン産生誘導機構

滑膜炎組織内では、T 細胞はマクロファージなどの抗原提示細胞や活性化された滑膜細胞に発現する MHC class II 分子上に提示される抗原情報を T 細胞レセプターを介して認識する。この際、抗原情報(主刺激)とともに、LFA-1 などのインテグリンや CD 28 などを介する副刺激(costimulation)の共存が必須であり、両刺激の共存により T 細胞は活性化される。In vitro で CD 3 抗体と ICAM-1 の双方を固相化すると、T 細胞の増殖や IL-2 産生が著明に誘導される²²⁾。RA 滑膜細胞には、ICAM-1 を強く発現し T 細胞に対して stimulator としてと同時に responder としても機能する線維芽細胞様滑膜細胞が多く認められるとされる。実際、滑膜細胞上の ICAM-1 は、T 細胞との細胞接着のみならず、インテグリンを介して副刺激を伝達する分子としても機能する。また、LFA-1/ICAM-1 の接着経路を介して、CD 28/CD 86 非依存性に、IFN- γ のみならず MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES などのケモカインの産生を T 細胞に誘導できる²³⁾。逆に、costimulation シグナル伝達を阻害すると T 細胞は活性化されずに免疫学的寛容状態、さらにアポトーシスに陥る²⁴⁾。実際、CD 28 をノックアウトしたマウスでは、T 細胞

は TCR/CD 3 複合体や他の costimulation シグナル伝達分子を反復刺激しても反応せず、また、コラーゲン誘導関節炎を起こさない²⁵⁾。

RA と変形性関節症(OA)の滑膜組織を比較すると、RA 滑膜組織では、血管内皮細胞と滑膜表層から表層下の滑膜細胞が抗 ICAM-1 抗体で強染色される。滑膜細胞に発現する ICAM-1 を特異抗体で架橋形成すると、転写因子 AP-1 の活性化を介して IL-1 β 遺伝子の転写を誘導する²⁶⁾。また、OA と比較すると、RA 滑膜においてヒアルロン酸レセプターとして知られる CD 44 の発現が著明に増強し、その発現は炎症強度に相関して観察される。RA 滑膜細胞では、CD 44 を特異抗体や細胞外基質蛋白質で架橋形成すると、転写因子 AP-1 の活性化を介して IL-1 β や ICAM-1 や VCAM-1 の遺伝子の転写が誘導される^{27,28)}。また、マクロファージなどに発現する CD 40 は、T 細胞の CD 40 L と接着して、チロシンキナーゼ依存性の MAP/ERK キナーゼの活性化を誘導し、IL-1 や TNF- α などの炎症性サイトカインの産生をもたらす。また、この情報伝達は、マクロファージをあらかじめ IL-4 や IL-10 で処理すると抑制される²⁹⁾。すなわち、滑膜細胞に発現する ICAM-1 や CD 44 は、細胞接着を介して細胞外情報を細胞内に伝達する役割を担い、サイトカイン産生などの細胞機能をも誘導することが明らかである。

図 5 滑膜炎症病態におけるサイトカインと接着分子のクロストーク

RA 滑膜炎病態形成における接着分子とケモカインのクロストーク

RA 滑膜炎症部では、T 細胞は組織内から産生されるケモカイン刺激によって伝達される細胞内シグナルによりインテグリンが活性化されて接着可能となり、組織内へ遊出すること、ケモカインが効率的に機能するためには滑膜炎症部の血管内皮細胞に発現するヘパラン硫酸プロテオグリカンが介在することが解明された。ICAM-1 や VCAM-1 の発現も、IL-1 などのサイトカイン刺激によって伝達される細胞内シグナルにより誘導される。すなわち、接着分子の発現量やインテグリンの接着性は、サイトカインなどの刺激によって伝達される細胞内シグナルにより調節される (inside-out signal)。逆に、T 細胞を抗原刺激する際の costimulatory シグナルや滑膜細胞に発現する ICAM-1 や CD 44 を介するシグナルは、細胞接着を介して細胞外情報を細胞内に伝達し、細胞の活性化やサイトカイン産生を誘導する (outside-in signal)。以上のように、サイトカインと接着分子は、2 方向のシグナルを介して互いに制御・

協調 (クロストーク) し、細胞間の相互作用を調節する。かような接着分子をめぐる二方向のシグナル伝達機構は、RA 滑膜炎の病態形成やその遷延化において最大限に発揮されるが、ケモカインの産生、インテグリンの活性化やヘパラン硫酸プロテオグリカンの発現は、炎症、凝固、腫瘍などなんらかの病態と関連してより効率的にもたらされるものである (図 5)。また、これらの概念は、RA のみならず自己免疫、感染、アレルギー、癌細胞浸潤、移植拒絶、動脈硬化などを契機にもたらされる炎症病態をはじめとするさまざまな病態の解明に結びつくものと期待される。

治療的応用への展望

接着分子とケモカインとのクロストークという観点から、RA の治療戦略を考えると、① inside-out signal の観点から接着分子の発現量や接着性を誘導するサイトカインやケモカイン刺激に対する療法、② 誘導された接着分子を介する接着阻害、③ outside-in signaling に関与する接着分子 (細胞表面機能分子) の阻害などがあげられる。接

着分子阻害の臨床応用は、RA 患者に対する ICAM-1 抗体の投与で一定の効果は報告され、マウス関節炎モデルで、LFA-1/ICAM-1 抗体、VLA-4 抗体、CD 40 L 抗体、CTLA-4-Ig キメラの投与による病態制御が報告される。また、動物関節炎モデルでは、抗 RANTES 抗体、抗 MIP-1 α 抗体、抗 MCP-1 抗体などのケモカイン抗体の投与が発症の遅延や病態の制御に有効である^{30,31)}。抗炎症性サイトカインである IL-1 レセプターアンタゴニスト、可溶性 TNF レセプター、IL-4、IL-10、IL-13 などの遺伝子を種々のベクターを用いて関節局所、または全身投与して遺伝子導入し、動物関節炎の制御において良好な成績が得られている³²⁾。さらに、可溶性 TNF レセプター(etanercept, p 75 と Fc の合成蛋白質)は、米国ではすでに FDA で認可されているが³³⁾、これらの抗サイトカイン療法は、inside-out signal の制御という観点からもとらえることができる。将来的には、アデノウイルスなどのベクターを用いた接着分子や上記情報伝達関連分子の遺伝子療法、また、抗接着分子抗体とサイトカイン遺伝子ベクター複合体イムノジーンの使用など、接着分子へのアプローチも治療の新機軸の一つとして期待される。いかに炎症を特異的にかつ効率よく抑制しうるかは長年の課題であるが、ケモカインとレセプター発現やインテグリンの活性化などを制御することによって、より選択的、かつ、効率的な疾患制御への道が開けるものと期待される。

文 献

- 1) Feldmann M, Brennan FM, Maini RN : Rheumatoid arthritis. *Cell* 85 : 307-312, 1996.
- 2) Tanaka Y, Fujii K, Hubscher S et al. : Heparan sulfate proteoglycan on endothelium efficiently induces integrin-mediated T cell adhesion by immobilizing chemokines in rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum* 41 : 1365-1377, 1998.
- 3) Shimizu Y, Newman W, Tanaka Y et al. : Lymphocyte interactions with endothelial cells. *Immunol Today* 13 : 106-112, 1992.
- 4) Springer TA : Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol* 57 : 827-872, 1995.
- 5) Tanaka Y, Albelda SM, Horgan KJ et al. : CD 31 expressed on distinctive T cell subsets is a preferential amplifier of β 1 integrin-mediated adhesion. *J Exp Med* 176 : 245-253, 1992.
- 6) Zell T, III SWH, Mobley JL et al. : CD 28-mediated up-regulation of β -integrin adhesion involves phosphatidylinositol 3-kinase. *J Immunol* 156 : 883-891, 1996.
- 7) Tanaka Y, Adams DH, Hubscher S et al. : T-cell adhesion induced by proteoglycan-immobilized cytokine MIP-1 β . *Nature* 361 : 79-82, 1993.
- 8) Homey B, Zlotnik A : Chemokines in allergy. *Curr Opin Immunol* 11 : 626-634, 1999.
- 9) Shimizu Y, Hunt III SW : Regulating integrin-mediated adhesion : one more function for PI 3-kinase? *Immunol Today* 17 : 565-573, 1996.
- 10) Tanaka Y, Minami Y, Mine S et al. : H-Ras signals to cytoskeletal machinery in induction of integrin-mediated adhesion of T cells. *J Immunol* 163 : 6209-6216, 1999.
- 11) Binnerts M, van Kooyk Y : How LFA-1 binds to different ligands. *Immunol Today* 20 : 240-245, 1999.
- 12) Tanaka Y : Activation of leukocyte function-associated antigen-1 on adult T-cell leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 163 : 6209-6216, 1999.
- 13) Liu Z-J, Tanaka Y, Fujimoto H et al. : A novel role for H-Ras in the regulation of VLA-4 integrin and VCAM-1 via c-Myc-dependent and -independent mechanisms. *J Immunol* 163 : 4901-4908, 1999.
- 14) Shibayama H, Anzai N, Braun SE et al. : H-Ras is involved in the inside-out signaling pathway of interleukin-3-induced integrin activation. *Blood* 93 : 1540-1548, 1999.
- 15) Zhang Z, Vuori K, Wang H et al. : Integrin activation by R-ras. *Cell* 85 : 61-68, 1996.
- 16) Laudanna C, Campbell JJ, Butcher EC : Role of Rho in chemoattractant-activated leukocyte adhesion through integrins. *Science* 271 : 981-983, 1996.
- 17) Mack M, Bruhl H, Gruber R et al. : Predominance of mononuclear cells expressing the chemokine receptor CCR 5 in synovial effusions of patients with different forms of arthritis. *Arthritis Rheum* 42 : 981-988, 1999.
- 18) Gomez RJ, Pablos JL, Carreira PE et al. : Association of rheumatoid arthritis with a functional chemokine receptor, CCR 5. *Arthritis Rheum* 42 : 989-992, 1999.
- 19) Kitayama J, Mackay CR, Ponath PD et al. : The C-C chemokine receptor CCR 3 participates in stimulation of eosinophil arrest on inflammatory endothelium in shear flow. *J Clin Invest* 101 : 2017-2024, 1998.
- 20) Tanaka Y, Kimata K, Adams DH et al. : Modulation of cytokine function by heparan sulfate proteoglycans : sophisticated models for the regulation of cellular responses to cytokines. *Proc Assoc Am Physicians* 110 : 118-125, 1998.
- 21) Tanaka Y, Adams DH, Shaw S : Proteoglycans on endothelial cells present adhesion-inducing cytokines to leukocytes. *Immunol Today* 14 : 111-115, 1993.
- 22) Chen T, Goldstein JS, O'Boyle K et al. : ICAM-1 co-stimulation has differential effects on the acti-

- vation of CD 4⁺ and CD 8⁺ T cell. *Eur J Immunol* 29 : 809-814, 1999.
- 23) Kim JJ, Tsai A, Nottingham LK et al. : Intracellular adhesion molecule-1 modulates β -chemokines and directly costimulates T cells in vivo. *J Clin Invest* 103 : 869-877, 1999.
- 24) Schwarz RH : Models of T cell anergy : is there a common molecular mechanism? *J Exp Med* 184 : 1-10, 1996.
- 25) Tada Y, Nagasawa K, Ho A et al. : CD 28-deficient mice are highly resistant to collagen-induced arthritis. *J Immunol* 162 : 203-208, 1999.
- 26) Koyama Y, Tanaka Y, Saito K et al. : Cross-linking of intercellular adhesion molecule-1 (CD 54) induces AP-1 activation and interleukin-1 β transcription. *J Immunol* 157 : 5097-5103, 1996.
- 27) Fujii K, Tanaka Y, Hubscher S et al. : Crosslinking of CD 44 on rheumatoid synovial cells upregulates VCAM-1. *J Immunol* 162 : 2391-2398, 1999.
- 28) Fujii K, Tanaka Y, Hubscher S et al. : Crosslinking of CD 44 on rheumatoid synovial cells augment IL-6 production. *Lab Invest* 79 : 1439-1446, 1999.
- 29) Suttles J, Milhorn DM, Miller RW et al. : CD 40 signaling of monocyte inflammatory cytokine synthesis through an ERK 1/2-dependent pathway. A target of interleukin (il)-4 and il-10 anti-inflammatory action. *J Biol Chem* 274 : 5835-5842, 1999.
- 30) Szekanecz Z, Strieter RM, Kunkel SL et al. : Chemokines in rheumatoid arthritis. *Springer Semin Immunopathol* 20 : 115-132, 1998.
- 31) Barnes DA, Tse J, Kaufhold M et al. : Polyclonal antibody directed against human RANTES ameliorates disease in the Lewis rat adjuvant-induced arthritis model. *J Clin Invest* 101 : 2910-2919, 1998.
- 32) Evans CH : Gene therapy for rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 42 : 1-16, 1999.
- 33) Goldenberg MM : Etanercept, a novel drug for the treatment of patients with severe, active rheumatoid arthritis. *Clin Ther* 21 : 75-87, 1999.