

免疫とアポトーシス

Apoptosis in Immunology: An Overview

多田隈 卓史

要約

アポトーシスとは細胞自身が保有する自爆死機構の引き金を引くことでもたらされる細胞死であり、生体内では幅広く観察される現象である。本稿では、免疫系で観察されるアポトーシスに関して、(1) T細胞・B細胞レパトリーの形成、(2) 過剰な免疫反応の抑制、(3) キラー細胞の傷害機序、の3点からアポトーシス機構がいかに関与しているのか、概説を試みた。アポトーシス機構の乱れは自己免疫疾患やエイズの発症の起因となっている。

キーワード：アポトーシス、免疫系、T細胞・B細胞レパトリーの形成、Fas-FasL系、細胞傷害機序

はじめに

アポトーシスとは、細胞自らが保有する自爆死機構を発動させることで誘導される細胞死であり、生体にとっては不利・不用になった細胞が自ら死んでいくことで生体の統一性を維持しようとする機構といえよう¹⁾。アポトーシスは動物、植物を問わず広く観察される現象であり、例えば発生、分化の際、ミット型の手から指が形成されるのは指間の細胞が死ぬことによるのであり、眼の水晶体は構成する細胞が死ぬことで透明化する。心臓、口蓋は左右の壁が接触しその部分がアポトーシスすることで融合する(これに失敗したのが、三つ口)さらに、神経細胞は余計に作られ、連絡網の形成に成功したもののみが生き残り、神経回路が完成する。アポトーシスは日常の生活中でも観察され、例えば、常に外界の刺激にさらされている腸管上皮細胞は常に新しい細胞が産生され、古い細胞はアポトーシスすることで便の一部として排出されている。

生体の統一性を保つという点では免疫系も大きな役割を果たしているが、免疫系の中でもアポトーシス機構が幅広く応用されている。本稿ではアポトーシスが免疫系でどのような役割を果たしており、その機構はどの程度解明が進んでいるか概説を試みた。

アポトーシスとは

アポトーシスによる典型的な細胞死はその形態学

的变化とDNAの切断で特徴付けられる。細胞は縮小し、核の濃縮、染色体の凝縮が観察され、次第に細胞は断片化し(アポトーシス小体)、小体の細胞膜は破裂することなく貪食細胞により捕捉処理される。一方、アポトーシスの際エンドヌクLEASEが活性化されるため、DNAが切断される。この際、ヒストンコアに巻きついている部分は切断されないで、結果的には180-200塩基の整数倍のDNA断片が観察されることになる。

アポトーシスは外的および内的な多くの刺激で誘導されるが、その誘導経路は大きく2つに分けられる²⁾。その1つはミトコンドリアを介する系で、ミトコンドリアまで至るシグナル系は不明な点が多いが、恐らくはBakやBax(後述)を介してミトコンドリアに小さな孔を開け、シトクロームcの流出をもたらす。これにApaf-1、caspase9が結合することで大きな複合体を形成し、caspase9が活性化され、caspase3を介して、最終的にCAD(caspase-activated DNase)によりDNAが切断される³⁾。もう1つはミトコンドリアを介さない系で、Fas抗原やTNFレセプターを介して死のシグナルが入り、caspase8を介して、caspase3につながる経路である⁴⁾。

一方、アポトーシス誘導を抑制する因子も知られており、代表的なものとしてBcl-2/Bcl-XLが上げられる⁵⁾。両者とも、ミトコンドリアに結合することで、Bak/Baxの機能と拮抗していると予想される。なお、Bcl-2等は大きなファミリーを形成しており、BHドメイ

ンと呼ばれる共通の構造を有している。BH1とBH2ドメインはチャンネルの形成に働き、BH1, BH2, BH3ドメインを有すると (Bak, Bax) 細胞死を促進し、BH1, BH2, BH3, BH4ドメインを保有すると (Bcl-2/Bcl-XL) 抑制的に働く。さらに、BH3ドメインのみを有する因子もあり、Bcl-2/Bcl-XLと拮抗することで、あるいはBak/Baxの機能を促進することで、アポトーシス誘導に働くと予想されている。

免疫レパートリーの形成とアポトーシス

1. 胸腺T細胞におけるアポトーシス

T細胞のレパートリーは胸腺内での遺伝子のランダムな組合せで形成される結果、T細胞レパートリーとしては不完全なもの、有用なもの、自己反応性で生体に有害なもの3者が形成される。このうち不完全なレセプターを保有するT細胞はレセプターを介する分化シグナルを受取れず、アポトーシス死していくことになる。一方、残った細胞のうち自己成分と強く反応しうるものはアポトーシス機構を介して積極的に除かれていく (ネガティブ選択)。T細胞の胸腺内での分化・成熟過程はCD4とCD8の抗原マーカー

の発現で表すと、CD4⁺8⁻細胞からCD4⁺8⁺細胞を経て、CD4⁺8⁻のヘルパーT細胞とCD4⁺8⁺のキラーT細胞へと分化していく (図1)。このうちCD4⁺8⁻細胞の段階で非常にアポトーシスに感受性が高い時期がある⁶⁾。このときのアポトーシス誘導のシグナルはT細胞レセプター (TCR) を介していることは、抗CD3抗体によるアポトーシスの誘導や⁷⁾、さらにはTCRのトランスジェニックマウスを用いた解析から明らかにされているが⁸⁾、一方ではTCRを介するシグナルはT細胞の分化を促進するはずであり (ポジティブ選択)、その分かれ目が何に基因するのかは従来から議論的であった。目下のところ強いアフィニティで結合するときアポトーシスへ、弱い場合には分化・成熟へという考えが有力であるが、それでは具体的にアフィニティの差はどんなシグナルの相違として観察されるのであろうか。胸腺内のT細胞の選択にはMAPキナーゼが関与することが示唆されている。MAPキナーゼはERK, JNK, p38といった異なるキナーゼからなるが、弱いシグナルだと優先的にERKが活性化されポジティブ選択へ、強いシグナルだとJNKやp38が活性化され、細胞は死へ向かうとい

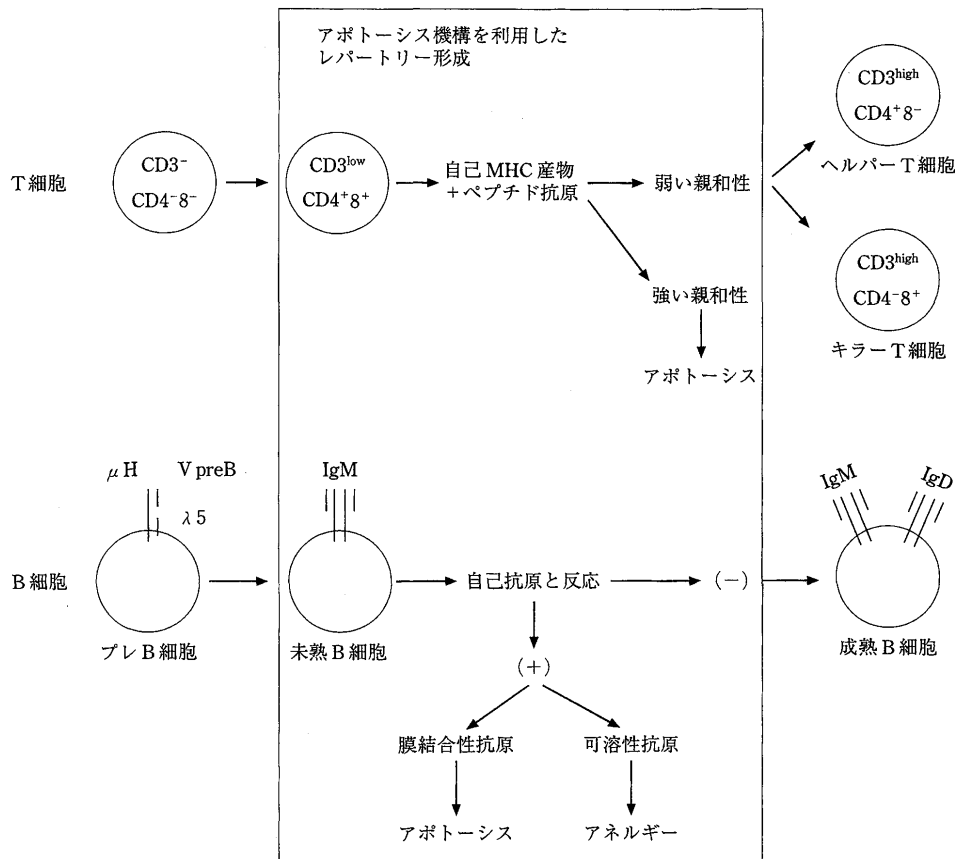


図1 T細胞, B細胞の分化・成熟とアポトーシス

T細胞, B細胞ともある特定の分化段階で非常にアポトーシス感受性の高い時期があり、この時点で多くの自己反応性細胞が除かれていく

う仮説も提出されているが⁹⁾、いまだ、確立されていない。

一方、最近BH3ドメインのみを有するアポトーシス誘導性因子Bimが胸腺内のT細胞のアポトーシスに重要な役割を果たしていることが、報告されている¹⁰⁾。通常はダイニン軽鎖と会合しているが、アポトーシス誘導シグナルにより、ミトコンドリアに移行しアポトーシスを惹起する。Bim欠損マウスでは、自己反応性T細胞の胸腺内での除去が異常になり、自己反応性T細胞が末梢リンパ組織にも出現するようになる¹¹⁾。したがって、T細胞レセプターからのシグナルが何らかの機序でBimの移行をもたらすと予想されているが、その機序やMAPキナーゼとの関係などは不明のままである。

さらに、CD4^{(+)8⁽⁺⁾}細胞の段階でなぜ感受性が高いかの1つの可能性として、アポトーシス抑制遺伝子であるBcl-2遺伝子の発現が低下していることも考えられる⁵⁾。実際、各細胞段階でのBcl-2の発現をみると、CD4^{(+)8⁽⁺⁾}細胞で急激に低下し、CD4^{(+)8⁽⁺⁾}やCD4^{(+)8⁽⁺⁾}細胞で再び上昇することが報告されている。しかし、Bcl-2の欠損マウスでも、Tリンパ球の分化・成熟には異常なく、むしろ成熟細胞の寿命が短くなっていることが明らかとなっている¹²⁾。Bcl-XLはBcl-2との相同遺伝子として同定され、その発現は胸腺細胞ではBcl-2と逆相関しているが、Bcl-XLの欠損マウスでもCD4^{(+)8⁽⁺⁾}細胞の寿命が短くなることはあってもアポトーシスの感受性を決めておらず、CD4^{(+)8⁽⁺⁾}細胞が他の細胞とどこが異なるのか今後の解析が待たれる。

2. B細胞におけるアポトーシス

B細胞は骨髄内で作られてくるが、このときも未熟B細胞と呼ばれる時期、すなわち μ 鎖 (IgM) レセプターを発現するが、 δ 鎖 (IgD) レセプターを発現していない時期にアポトーシスに高い感受性を示す (図1)。アポトーシスはB細胞レセプター (BCR) を介したシグナルによることは、たとえば抗IgM抗体で架橋させるとアポトーシスが誘導されることからわかる¹³⁾。しかし、B細胞の認識する抗原は可溶性のものから膜結合型まで多岐に亘っており (一方、T細胞はすべて膜結合型抗原を認識しているといえる)、抗原の性質などによって、クローンの除去から不活化 (アネルギー) に至るまで種々のパターンが存在するものと思われ、このことが末梢に自己反応性B細胞が存在する大きな理由になっている。

アポトーシスの誘導に至る過程はT細胞と同じようにミトコンドリアを介すると予想されるが、その機

序は依然不明である。最近、Bim欠損マウスでBCRを介するアポトーシスも著明に減少することが示された¹⁴⁾。TCRを介するアポトーシス誘導シグナルと同様にBCRを介するシグナルでBimの細胞骨格からミトコンドリアへの移行が起こるのではと予想される。

なお、成熟したB細胞が生存し続けるには、抗原刺激のほかに主としてT細胞から供給される共刺激が必要であり、例えば、B細胞が抗体産生する際、B細胞上に発現されているCD40分子と、抗原で活性化されることでT細胞表面に発現するCD40リガンドの結合が必要である¹⁵⁾。

さらに、B細胞の場合、一度抗体産生細胞になったものが、もう一度そのレパートリーを修正することが可能である。リンパ節内の胚中心ではB細胞は抗原の刺激なしで増殖しうるが、このときV領域の遺伝子に突然変異がみられ、その確率は非常に高く、1回の分裂で1個の核酸の変化が観察されるほどで、結果として多様性が増加する。このような細胞分裂は胚中心内の暗調域と呼ばれる部分でおこり、次第にB細胞は明調域と呼ばれる部位へ移動していくが、このとき濾胞状樹状細胞 (FDC) の網目の中を通過していく。FDCは抗原抗体複合物を保持しており、この保持抗原と反応しうる高親和性のB細胞は、FDCからのシグナルでBcl-2の発現が上昇し、生存へと向かい、反応性を失ったB細胞はアポトーシスにより除かれていく⁵⁾。このようにして、抗原への結合性がより高まった (affinity maturation) 抗体産生が可能となる。

免疫調節機構としてのアポトーシス

免疫の行き過ぎを調節する機構として、サプレッサーT細胞、イデオタイプ-抗イデオタイプネットワークなど従来から数多くの機構の存在が明らかにされており、最近ではCD4^{(+)CD25⁽⁺⁾}の調節性T細胞の存在が注目されている。

一方、アポトーシスの研究からFas-FasL (リガンド) を中心とした機構が、免疫の進行を行き過ぎないように調節しているのではということが示唆されている¹⁶⁾。活性化したT細胞はFas抗原の発現がみられるが、とりわけIL-2の存在下などでin vitroで長く刺激を続けると発現が顕著に高くなることが知られている。一方、活性化したヘルパーT細胞やキラーT細胞はFasLを発現するので、Fas-FasLを介したアポトーシスによりFas抗原を高発現した細胞は除かれていくことになる。

同様のことはB細胞でも観察され、LPSやCD40抗原を介して持続的に刺激を受けたB細胞は数日間培養すると急速にFas抗原の発現が増加し、FasLを発現しているT細胞により除かれていく。この際、興味あることは、抗IgM抗体などで抗原レセプターを架橋すると、Fas-FasLによる細胞死を抑制しうることで¹⁵⁾、この実験事実は、抗原が存在する限り活性化したB細胞はT細胞の助けを借りて抗体産生を続けることができ、抗原が消失していくとアポトーシス機構が働き抗体産生が急速に終息に向かうことを示唆している。

このような事実を裏付けるものとして、FasあるいはFasLの欠損したモデルマウスが知られており、これらのマウスでは多クローン性のリンパ球増加が見られ、リンパ節の腫脹が全身に観察される。

異物化細胞排除機構としてのアポトーシス

生体内ではウイルス感染により、あるいは癌化することで絶えず異物化した細胞が存在する危険性にさらされている。このような細胞を排除する際にも、標的細胞自身が保有するアポトーシス機構を巧みに利用して自殺に追い込む機構が存在している。その一つとしてキラーT細胞やNK細胞の放出するグランザイムなどによるアポトーシスの誘導があげられる¹⁷⁾。キラーT細胞やNK細胞は標的細胞を認識すると接着し、細胞内の分泌顆粒中に存在していたパーホリンを局所に放出する。Ca²⁺の存在下でパーホリンはポリマーを形成し標的細胞膜上に5~20nmの小さな孔をあけるが、これだけでは細胞死に至ることが少なく、さらに分泌顆粒中に共存しているセリンプロテアーゼであるグランザイム (Gra) などの導入が必要であり、これがアポトーシスを誘導し得ることが明らかにされつつある。Graはマウスで8種類 (A~H)、ヒトで3種類同定されているが、GraAはトリプシン型セリンエステラーゼで、GraBの方はアスパラギン酸を特異的に認識しうる。このうちGraBはアポトーシス誘導にもっとも重要ではないかと予想されており、その機序としてcaspase3を切断し、活性化することが予想されている。

もう1つの細胞接着を介する系としてFas-FasLがある。もし標的細胞がFas抗原を発現していれば、活性化したヘルパーT細胞あるいはキラーT細胞上に発現するFasLを介して細胞死が誘導されることになる。さらに、可溶性因子でアポトーシスをもたらしうるものとしてはTNF α 、TNF β があげられる¹⁸⁾。TNFレセプター (TNFR) はFasと相同性があり、TNFと

FasLで相同性があることはたいへん興味深い。TNFRには2種類あり、1つがp55のTNFR1型でもう一つがp75のTNFR2型である。このうちTNFR1がアポトーシスの誘導を仲介しうるものと考えられている。

最近、TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) も注目されつつある。活性化T細胞に発現しているTRAILが、TRAILレセプターに結合し、このレセプターを持つ細胞にアポトーシスを誘導する¹⁹⁾。この誘導は特にがん細胞に対して行われているようである。

おわりに

免疫系ではアポトーシスの誘導と回避機構が巧みにバランスがとられていることを述べてきた。この際アポトーシス機構がうまく働かないと自己免疫疾患が発症し易くなると予想される。それは胸腺や骨髄での自己反応性クローンの除去機能がわずかに低下することでも起こりうるし、また、末梢で活性化したT細胞やB細胞がFasLを介して排除される機能が低下しても起こりうる。さらに興味あることに、ウイルス感染の際多くのアポトーシス阻止因子が産生される。自らの増殖場所である感染細胞が何とかアポトーシスから免れるように働いているものと予想される。多くの自己免疫疾患発症の基底にウイルス感染の存在が予想されていることも大変興味深い点といえる。

一方、アポトーシス機構が過剰に働くと、例えば、ウイルス抗原を発現している肝細胞が急速に破壊される劇症肝炎などが観察される。

このようにアポトーシス機構の解明は各種免疫疾患の実態を明らかにするとともに、将来の治療手段の開発に大きく寄与するものと期待される。

引用文献

- 1) Kerr JFR, Wyllie A, et al: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, 26: 239-257, 1972.
- 2) Hengartner MO: The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 407: 770-776, 2000.
- 3) Kroemer G, Zamzami N, et al: Mitochondrial control of apoptosis. *Immunology Today*, 18: 44-51, 1997.
- 4) Nagata S, Golstein P: The Fas death factor. *Science*, 267: 1449-1462, 1995.
- 5) Korsmeyer SJ: Bcl-2: a repressor of lymphocyte death. *Immunology Today*, 13: 285-288, 1992.

- 6) Kizaki H and Tadakuma T: Thymocyte apoptosis. *Microbiol. Immunol.*, 37: 917-925, 1993.
- 7) Tadakuma T, Kizaki H, et al: CD4⁺CD8⁺ thymocytes are susceptible to DNA fragmentation induced by phorbol ester, calcium ionophore and anti-CD3 antibody. *Eur. J. Immunol.*, 20: 779-784, 1990.
- 8) Iwabuchi K, Nakayama K, et al: Cellular and peptide requirements for in vitro clonal deletion of immature thymocytes. *Proc. Natl. Acad.Sci. USA*, 89: 9000-9004, 1992.
- 9) Sugawara T, Monguchi T, et al: Differential roles of ERK and p38 MAP kinase pathways in positive and negative selection of T lymphocytes. *Immunity*, 9: 565-574, 1998.
- 10) Puthalakath H, Huang DC, et al: The proapoptotic activity of the Bcl-2 family member Bim is regulated by interaction with dynin motor complex. *Mol. Cell*, 3: 287-296, 1999.
- 11) Bouillet P, Purton JF, et al: BH3 only Bcl-2 family member Bim is required for apoptosis of autoreactive thymocytes. *Nature*, 415: 922-926, 2002.
- 12) Veis DJ, Santman CL, et al: Expression of the Bcl-2 protein in murine and human thymocytes and in peripheral T lymphocytes. *J.Immunol.*, 151: 2546-2554,1993.
- 13) Norvell A, Mandik L, et al: Engagement of the antigen-receptor on immature murine B lymphocytes results in death by apoptosis. *J. Immunol.*, 154 : 4404-4413, 1995.
- 14) Enders A, Bouillet P, et al: Loss of the proapoptotic BH3-only Bcl-2 family member Bim inhibits BCR stimulation-induced apoptosis and deletion of autoreactive B cells. *J. Exp. Med.*, 98: 1119-1126, 2003.
- 15) Tsubata T: Apoptosis of mature B cells. *Int. Rev. Immunol.*, 18: 347-365, 1998.
- 16) Rothstein TL, Wang JK, et al: Protection against Fas-dependent Th1-mediated apoptosis by antigen receptor engagement in B cells. *Nature*, 374: 163-165, 1995.
- 17) Smyth M J, and Trapani J A: Granzymes; exogenous proteinases that induce target cell apoptosis. *Immunology Today*, 16: 202-206, 1995.
- 18) Hsu H, Shu SB, et al: TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell*, 84: 299-308, 1996.
- 19) Yagita H, Takeda K, et al: TRAIL and its receptors as targets for cancer therapy. *Cancer Sci.*, 95: 777-83, 2004.

Apoptosis in Immunology: An Overview

Takushi Tadakuma

Abstract

Apoptosis is a physiological cell death and plays important roles in the various fields of immunology, including (1) in the formation of T cell and B cell repertoires, (2) in the regulation of hyper-activated T or B cells by Fas-FasL system, and (3) in the effector phases of killer T cells or NK cells to eliminate the tumor cells or virus-infected cells. The disturbance of apoptosis mechanism will induce various immunological disorders such as AIDS and autoimmune disease.

Keywords: Apoptosis, Immune system, Repertoire formation of T and B cells, Fas-FasL system, Killer mechanism