

琉球大学学術リポジトリ

[原著] Th 1-Th

2バランスの人為的制御による難治性感染症治療の試み

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2010-07-02 キーワード (Ja): キーワード (En): immunotherapy, Th 1-Th 2 cytokine balance, IFN-gamma, IL-12, IL-18, infectious disease 作成者: 川上, 和義, Kawakami, Kazuyoshi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016129

Th 1-Th 2バランスの人為的制御による難治性感染症治療の試み

川上和義

琉球大学大学院医学研究科感染症制御学講座分子病態感染症学分野

Immunotherapy of intractable infectious diseases by artificial control of Th 1-Th 2 cytokine balance

Kazuyoshi Kawakami

Department of Internal Medicine, Division of Infectious Diseases, Graduate School and Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

ABSTRACT

In recent years, there has been an increase in the number of patients with compromised immune systems. This is due to the rise in the number of aging people, patients receiving immunosuppressive agents after organ transplantation, patients with hematological malignancies and patients with AIDS. These individuals frequently fall into Th 1-Th 2 cytokine imbalance due to a shift towards Th 2-dominant conditions. Such pathological condition puts them at a high risk for developing infectious diseases caused by a variety of microbial pathogens which are often refractory to the conventional chemotherapy. Artificial control of the Th 1-Th 2 balance is therefore expected to be a promising method of immunotherapy against these intractable infectious diseases. In a series of investigations, we demonstrated the effectiveness of Th 1-associated cytokines, such as IFN- γ , IL-12 and IL-18 in protecting animals against experimental infectious diseases caused by *Mycobacterium tuberculosis* and *Cryptococcus neoformans*. Recently, several investigators have reported the successful clinical treatment of mycobacterial infections with IFN- γ and IL-12. Scientific evaluation is needed to clinically prove the effectiveness of these novel immunotherapies. *Ryukyu Med. J.*, 22(1,2) 9~13, 2003

Key words: immunotherapy, Th 1-Th 2 cytokine balance, IFN-gamma, IL-12, IL-18, infectious disease

1. はじめに

近年の感染症をめぐる状況は大きく変貌しつつある。前世紀は、1928年のAlexander Flemingによるペニシリンの発見以来様々の抗菌薬が開発され、一時は感染症が克服されたかに思われた時期もあった。しかし、1980年代から新興・再興感染症や耐性菌感染症、病院内感染症などの多くの問題が噴出し、そのまま今世紀に持ち越された状況になっている。特に1990年代からは、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA)、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP)、 β ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性インフルエンザ桿菌 (BLNAR)、基質拡張型 β ラクタマーゼ産生菌 (ESBL)、メタロ β ラクタマー

ゼ産生菌、多剤耐性緑膿菌、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (VRSA)、多剤耐性結核菌 (MDR-TB) など数々の耐性菌が出現し、実際にその多くは臨床の場でも脅威となりつつある。また、近年は人口の高齢化、移植医療の進歩、エイズの蔓延などにより免疫低下宿主が増加し、それに伴い日和見感染症が難治性疾患として臨床上問題になっている。

一方、1980年代半ばより感染免疫研究が急速な進展を遂げ、感染防御機構をサイトカイン、ケモカイン、接着分子、細胞表面分子、細胞内シグナル伝達分子など分子レベルで理解することが可能になってきた。また、これまでの免疫学研究の中心的な命題であった獲得免疫に加えて、Toll-like receptorや $\gamma\delta$ T細胞、NKT細胞、

Table 1 結核の主な増悪因子

1. 疾患
1) 糖尿病
2) 慢性腎不全(血液透析)
3) 低栄養
4) アルコール中毒
5) 血液悪性疾患: ATL, 白血病, 悪性リンパ種
6) 悪性疾患(固形癌)
7) 先天性免疫不全症
8) 後天性免疫不全症(エイズ)
2. 医原性
1) ステロイド長期投与
2) 臓器移植後の免疫抑制剤投与
3) 癌化学療法
4) 放射線照射

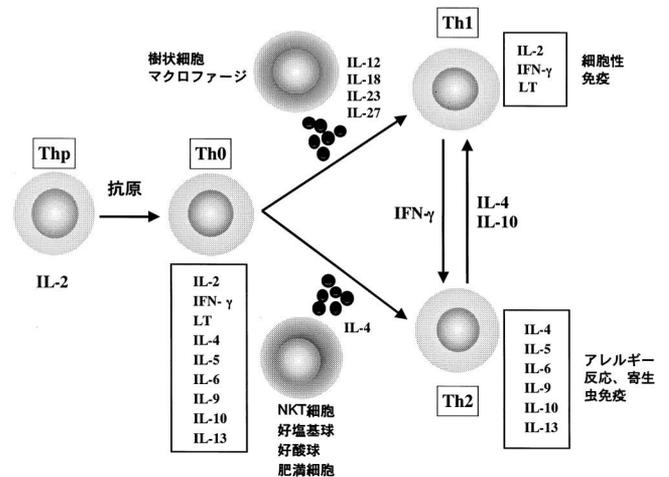


Fig. 1 Th1, Th2細胞分化と誘導サイトカイン

B1細胞などの発見を機に自然免疫研究が長足の進歩を遂げつつある。さらには、Mosmannらによって提唱されたTh 1-Th 2理論がヒトでも成り立つことが確認され、感染、腫瘍、アレルギーなど様々な分野で発症病態との関連で精力的に研究が行われている。

このような背景の中で、難治性感染症に対するワクチンや免疫療法の開発が新たな展開を見せており、実用化の可能性が高まりつつある。本稿では、動物モデルを用いた解析から宿主の感染防御機構におけるTh 1-Th 2サイトカインバランスの意義について述べるとともに、その人為的な制御によるヒトの難治性感染症治療の可能性についてこれまでの報告も含めて考察したい。

2. 感染制御とTh 1-Th 2バランス

2.1. Th 1, Th 2細胞

Mosmannらは、マウスの長期培養ヘルパーT (Th) 細胞クローンがサイトカインの産生パターンによって2種類に分かれることを見出した¹⁾。Th 1細胞は、IL-2, IFN- γ , Lymphotoxin (LT) を産生するが、IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13は産生しない。Th 2細胞はその逆のパターンをとる(図1)。naïve Th細胞は抗原刺激を受けた後、樹状細胞やマクロファージから産生されるIL-12が存在するとTh 1細胞に、NKT細胞、好塩基球、好酸球、肥満細胞などから産生されるIL-4が存在するとTh 2細胞に分化する。IL-18はIL-12によるTh 1細胞への分化を増強するが²⁾、最近新たなIFN- γ 誘導サイトカインとして発見されたIL-23やIL-27の役割は不明である³⁾。Th 1細胞は細胞性免疫において重要であり、細胞内寄生菌、原虫、一部の真菌に対する感染防御では中心的役割を担っている。一方、Th 2細胞はIgE産生、好酸球の活性化において重要であ

り、寄生虫感染制御、アレルギー性疾患において中心的役割を果たしている。また、両者はIFN- γ , IL-10を介して相互に抑制しあっている¹⁾。

2.2. 感染制御におけるTh 1 Th 2サイトカインの役割

Heinzelらは、*Leishmania*感染においてIFN- γ が防御的に、逆にIL-4が感染を悪化させる方向に作用することを明らかにし⁴⁾、以来細胞性免疫が防御に重要な病原微生物においてはTh 1及びTh 2サイトカイン産生のバランスが感染経過を決定するとの考え方が提唱されるようになった。近年著者らは、Th 1関連サイトカイン遺伝子を欠損したマウスを用いて結核、クリプトコッカス感染制御におけるこれらサイトカインの役割について解析を行った。結核菌は細胞内寄生細菌であり、その排除には細胞性免疫の成立が必須である。クリプトコッカスは従来細胞外増殖真菌と認識されていたが、最近の研究から貪食細胞からの細胞内寄生真菌であることが明らかにされている⁵⁾。両者ともにIFN- γ 遺伝子欠損(GKO), IL-12 KO, IL-18 KOマウスで感染の悪化が観察されたが、その程度はGKO>IL-12 KO>>IL-18 KOマウスの順であり、IFN- γ とIL-12が特に重要と考えられた^{6,7)}。一方、クリプトコッカス感染マウスに抗IL-4中和抗体を投与すると、逆に感染の改善が観察されたことから⁸⁾、Th 2サイトカインが感染防御機構を負に調節することが明らかになった。

マウスで得られた結果がヒトにも適用できるか問題になった時期がある。それまでIFN- γ がマウス由来マクロファージの結核菌殺菌活性を増強すると考えられていたが、ヒト末梢血単球あるいは単球由来マクロファージをIFN- γ で刺激するとそのような活性が観察されないばかりか、むしろ殺菌活性が抑制されるとの報告もみられた^{9,10)}。しかし、その後この疑問を解消する報告が相

Table 2 多剤耐性結核に対するIFN- γ 吸入療法（文献22より改変引用）

	症 例					
	#1	#2	#3	#4	#5	
抗結核薬	CPFX, CPM, CLFZ, RBT	INH, OFLX, TH, CS	CPM, CPFX, PZA, CS, TH	EB, OFLX, CPM, TH, phenylamino- salicylate	AMK, CS, TH, CLFZ, phenylamino- salicylate	
IFN- γ 開始前の 治療期間	24ヶ月	12ヶ月	13ヶ月	10ヶ月	5ヶ月	
喀痰塗沫	IFN- γ 治療前	++	++	++++	+	+++
	IFN- γ 治療後	-	-	-	-	+
CT所見	改善	空洞縮小	空洞縮小	空洞縮小	不変～ 軽度改善	

*CPFX, ciprofloxacin; CLFZ, clofazimine; RBT, rifabutin; OFLX, ofloxacin

次いでなされた。IFN- γ 受容体、IL-12やIL-12受容体の遺伝子に異常を有する患者が発見され、このような患者では抗酸菌、サルモネラ、レジオネラのような細胞内寄生菌による感染に極めて高い感受性を示したのである¹¹。こうして、マウスだけでなくヒトにおいても感染制御におけるTh 1関連サイトカインの重要性が実証された。

臨床的にも易感染性とTh 1-Th 2バランスの関連性を示唆する報告がなされつつある。表1に臨床的検討から明らかになった結核の発症・増悪要因を示す。古くから結核に糖尿病を合併する患者の多いことが指摘されており、このような患者では結核が悪化、再発しやすいことが知られていた。露口らは、実験的糖尿病モデルを用いて結核菌に対する細胞性免疫が低下することを報告している¹²。一方、Mencacciらは同様なモデルを用いて、高血糖状態ではTh 1-Th 2バランスがTh 2側に偏るために*Candida albicans*に対して易感染性になることを示している¹³。また、ステロイドの長期使用により感染抵抗力が低下し、日和見感染症が日常臨床的に問題になっている。ステロイドが好中球の遊走、貪食、殺菌能を抑制することはよく知られているが、細胞性免疫に対しても強力な抑制作用を示す。最近では、ステロイドがTh 1サイトカインを特異的に抑制することでTh 1-Th 2バランスをTh 2側に偏位させることが報告されている^{14,15}。エイズではCD 4陽性T細胞数が減少するために細胞性免疫能が著明に障害される。したがってエイズは強力な結核増悪要因となる。Clericiらは、HIV感染の病期が進むにつれてTh 1-Th 2バランスがTh 2側に偏ることを報告しており¹⁶、CD 4+T細胞の数の減少のみならず、各サブセットの質的な変化も増悪要因のひとつと考えられる。

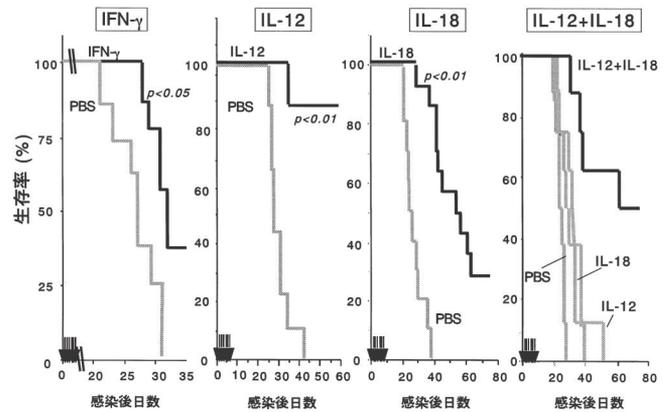


Fig. 2 実験的致死性クリプトコッカス感染症に対するTh1関連サイトカインの治療効果

3. Th 1-Th 2バランスの人為的制御による難治性感染症治療

前述したように、多くの易感染状態においてTh 1-Th 2バランスがTh 2側に傾いていることから、バランスを人為的に制御することによって難治性感染症を治療できる可能性が考えられる。著者らは、動物モデルを用いて致死性の結核及びクリプトコッカス感染症に対するTh 1関連サイトカインの治療効果について検討を行ってきた（図2）。いずれの感染症に対してもIFN- γ 投与は有意に肺内生菌数を減少させ、クリプトコッカスにおいては生存期間を延長させることができた。IL-12投与でも同様の効果が観察されたが、IFN- γ に比べるとその効果は明らかに強力であり、結核及びクリプトコッカスにおいてほとんどのマウスを感染死から救うことがで

きた^{17,18)}。一方、IL-18にも感染防御効果がみられたが、IL-12に比べると弱かった¹⁹⁾。さらに、IL-12とIL-18の併用効果についても検討した。投与量をそれぞれ1/5, 1/20に減量し単独では防御効果を示さない条件で調べたところ、両サイトカインの併用によって相乗効果が観察された²⁰⁾。このことから、IL-12及びIL-18の投与量を減量することで副作用を減らせる可能性のあることが予想された。

4. Th 1関連サイトカインの難治性感染症治療への臨床応用

現在臨床で利用できるサイトカインはG-CSF, M-CSF, IL-2, IFN- γ のみである。IL-2とIFN- γ は適応疾患が限られており、通常は感染症治療には使用できない。ただし、IFN- γ については、その強力なマクロファージ殺菌増強作用のために早くから注目され、難治性抗酸菌症の治療目的に臨床応用が試みられてきた。初期の報告ではIFN- γ を全身投与しており、種々の基礎疾患をもった非結核性抗酸菌症に対して治療効果を示していたが副作用の発現が懸念されていた²¹⁾。一方Condosらは、化学療法が無効であった多剤耐性肺結核の5症例に対して化学療法を継続したままでIFN- γ の吸入療法を試みている²²⁾。表2に治療効果を示す。IFN- γ の吸入は週に3日を4週間、合計12日実施された。その結果、5例中4例で喀痰塗沫にて菌陰性化し、胸部CT写真では1例で有意な改善、1例で不変から軽度改善、残りの3例で空洞の縮小が観察された。副作用としては筋肉痛、咳嗽程度で重篤なものはみられず、この治療法が十分に実施可能であることを報告している。

著者らは、インシュリン依存型糖尿病を基礎疾患にもつ多剤耐性結核菌による難治性肺結核患者に対して、IFN- γ によるサイトカイン療法を試みた。症例は34才男性、糖尿病発症の2年後に肺結核に罹患した。喀痰から検出された結核菌はINH, RFP, SM, EBの主要な抗結核薬に完全耐性を示す多剤耐性菌であり、これらの抗結核薬による治療にもかかわらず肺陰影の増大が認められた。その後、感受性のある他の抗結核薬を併用しながら治療を継続したが改善なく進行性に悪化がみられたため、本人と家族からインフォームドコンセントを得た後、化学療法とIFN- γ による併用療法を開始した。しかし、同治療を6ヶ月にわたって実施したが、臨床症状、炎症所見、細菌学的検査及び画像学的に明らかな改善はみられなかった。

その他のサイトカインとしてGreinertらは、first line drugsによるDOT療法を8ヶ月以上にわたって実施したにもかかわらず進行性に悪化を認めた粟粒結核患者に、IL-12を3ヶ月間補助的に投与したところ重篤な副作用もみられず有効であったと報告した²³⁾。これは、感染症治療にIL-12が投与された最初の事例であり、今

後このような報告が増加するものと予想される。

5. おわりに

新世紀に入り、免疫低下患者における難治性感染症が臨床上重要な問題となることが懸念されている。感染症における免疫療法はようやく幕を開けたばかりであり、本稿で述べたように難治性感染症に対するTh 1関連サイトカインを用いた治療の報告が少しずつ増加しつつある。今後は大規模臨床試験によってその有用性が科学的に証明され、難治性感染症に対する治療法のひとつとして臨床の場でも普通に使える日が一日でも早く到来することを期待したい。

文 献

- 1) Mosmann T.R. and Sad S.: The expanding universe of T-cell subsets: Th 1, Th 2 and more. *Immunol. Today* 17: 138-146, 1996.
- 2) Robinson D., Shibuya K., Mui A., Zonin F., Murphy E., Sana T., Hartley S.B., Menon S., Kastelein R., Bazan F. and O'Garra A.: IGIF does not drive Th 1 development but synergizes with IL-12 for interferon- γ production and activates IRAK and NF- κ B. *Immunity* 7: 571-581, 1997.
- 3) 笠倉新平: IL-22~IL-27 臨床免疫39: 189-200, 2003.
- 4) Heinzel F.P., Sadick M.D., Holaday B.J., Coffman R.L. and Locksley R.M.: Reciprocal expression of interferon- γ or interleukin 4 during the resolution of distinct helper T cell subsets. *J. Exp. Med.* 169: 59-72, 1989.
- 5) Feldmesser M., Tucker S. and Casadevall A.: Intracellular parasitism of macrophages by *Cryptococcus neoformans*. *Trends Microbiol.* 9: 273-278, 2001.
- 6) Kinjo Y., Kawakami K., Uezu K., Yara S., Miyagi K., Koguchi Y., Hoshino T., Okamoto M., Kawase Y., Yokota K., Yoshino K., Takeda K., Akira S. and Saito A.: Contribution of IL-18 to Th 1 response and host defense against infection by *Mycobacterium tuberculosis*: a comparative study with IL-12 p 40. *J. Immunol.* 169: 323-329, 2002.
- 7) Kawakami K., Koguchi Y., Qureshi M.H., Miyazato A., Yara S., Kinjo Y., Iwakura Y., Takeda K., Akira S., Kurimoto M. and Saito A.: IL-18 contributes to host resistance against infection with *Cryptococcus neoformans* in mice

- with defective IL-12 synthesis through induction of IFN- γ production by NK cells. *J. Immunol.* 165: 941-947, 2000.
- 8) Kawakami K., Qureshi M.H., Zhang T., Koguchi Y., Xie Q., Kurimoto M. and Saito A.: Interleukin-4 weakens host resistance to pulmonary and disseminated cryptococcal infection caused by combined treatment with interferon- γ -inducing cytokines. *Cell. Immunol.* 197: 55-61, 1999.
 - 9) Rook G.A., Steele J., Fraher L., Barker S., Karmali R., O'Riordan J. and Stanford J.: Vitamin D3, γ -interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology* 57: 159-63, 1986.
 - 10) Rook G.A., Steele J., Ainsworth M. and Champion B.R.: Activation of macrophages to inhibit proliferation of *Mycobacterium tuberculosis*: comparison of the effects of recombinant γ -interferon on human monocytes and murine peritoneal macrophages. *Immunology* 59: 333-338, 1986.
 - 11) Ottenhoff T.H., Kumararatne D., Casanova J.L.: Novel human immunodeficiencies reveal the essential role of type-1 cytokines in immunity to intracellular bacteria. *Immunol. Today* 19: 491-494, 1998.
 - 12) Saiki O., Negoro S., Tsuyuguchi I. and Yamamura Y.: Depressed immunological defense mechanisms in mice with experimentally induced diabetes. *Infect. Immun.* 28: 127-131, 1980.
 - 13) Mencacci A., Romani L., Mosci P., Cenci E., Tonnetti L., Vecchiarelli A. and Bistoni F.: Low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice. II. Susceptibility to *Candida albicans* infection correlates with the induction of a biased Th 2-like antifungal response. *Cell. Immunol.* 150: 36-44, 1993.
 - 14) Ramierz F., Fowell D.J., Puklavec M., Simmonds S. and Mason D.: Glucocorticoids promote a Th 2 cytokine response by CD 4+ T cells in vitro. *J. Immunol.* 156: 2406-2412, 1996.
 - 15) Visser J., van Boxel-Dezaire A., Methorst D., Brunt T., de Kloet E.R. and Nagelkerken L.: Differential regulation of interleukin-10 (IL-10) and IL-12 by glucocorticoids in vitro. *Blood* 91: 4255-4264, 1998.
 - 16) Clerici M. and Shearer G.M.: A Th 1 \rightarrow Th 2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol. Today* 14: 107-111, 1993.
 - 17) Kawakami K., Tohyama M., Teruya K., Kudeken N., Xie Q. and Saito A.: Contribution of interferon- γ in protecting mice during pulmonary and disseminated infection with *Cryptococcus neoformans*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 13: 123-130, 1996.
 - 18) Kawakami K., Tohyama M., Xie Q. and Saito A.: Interleukin-12 protects mice against pulmonary and disseminated infection caused by *Cryptococcus neoformans*. *Clin. Exp. Immunol.* 104: 208-214, 1996.
 - 19) Kawakami K., Qureshi M.H., Zhang T., Okamura H., Kurimoto M. and Saito A.: IL-18 protects mice against pulmonary and disseminated infection with *Cryptococcus neoformans* by inducing IFN- γ production. *J. Immunol.* 159: 5528-5534, 1997.
 - 20) Qureshi M.H., Zhang T., Koguchi Y., Nakashima K., Okamura H., Kurimoto M. and Kawakami K.: Combined effects of IL-12 and IL-18 on the clinical course and local cytokine production in murine pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*. *Eur. J. Immunol.* 29: 643-649, 1999.
 - 21) Holland SM *et al*: Treatment of refractory disseminated nontuberculous mycobacterial infection with interferon gamma: a preliminary report. *New Engl. J. Med.* 330: 1348-1355, 1994.
 - 22) Condos R., Rom W.N. and Schluger N.W.: Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon- γ via aerosol. *Lancet* 349: 1513-1515, 1997.
 - 23) Greinert U., Ernst M., Schlaak M. and Entzian P.: Interleukin-12 as successful adjuvant in tuberculosis treatment. *Eur. Respir. J.* 17: 1049-1051, 2001.