

第 112 回 日本眼科学会総会 特別講演 II

眼内炎症と恒常性維持

望月 學

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科眼科学分野

要 約

種々の原因で生じる眼内炎症の発症機構の解明は長い間未解決であったが 1977 年に Wacker らが網膜の可溶性成分から実験動物にぶどう膜炎を惹起する網膜自己抗原 (S 抗原) の分離・精製に成功し、実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (EAU) を確立してから、ぶどう膜炎の発症機構と眼内の免疫機構の研究が急速に進展した。EAU で得られた知識と研究方法はヒトの眼内炎症にも応用され、多くの疾患の発症機序の解明と治療法の開発がなされた。それらの研究を通して、視覚に関与する眼内の重要な組織を炎症から守るために眼内には特殊な局所免疫機構が存在し、眼内の恒常性を維持し高度視機能の保持に役立っていることも明らかになりつつある。本稿では、眼内炎症の発症機構と防御機構における T 細胞の役割に焦点を絞り、ぶどう膜炎の動物モデルとヒトの疾患における発症分子機構について論じ、さらに、眼内炎症を防御する眼内局所免疫機構について概説する。

1. ぶどう膜炎動物モデルにおける眼内炎症発症機構

T 細胞が欠如したヌードラットを用いた実験、ならびに、S 抗原感作リンパ球による移入実験により、EAU の発症には網膜自己抗原に感作された $CD4^+$ T リンパ球が重要であることが明らかにされた。また、T リンパ球を選択的に抑制する免疫抑制薬のシクロスポリンは従来の免疫抑制薬に比べ EAU 発症抑制と治療効果が高いことが示され、Behçet 病などの難治性ぶどう膜炎の治療に臨床応用された。すなわち、自己免疫性ぶどう膜炎の発症機構で主役を演じるのは T リンパ球、特に活性化 $CD4^+$ T リンパ球であることが EAU を用いた研究で明らかになった。

2. ヒトのぶどう膜炎における眼内炎症発症機構

我々は、日本人に関係の深い二つの疾患、すなわち Vogt—小柳—原田病とヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1) ぶどう膜炎の発症機構の研究を通して、ヒトの眼内炎症の発症機構にも活性化 $CD4^+$ T リンパ球が重要であることを明らかにした。

1) Vogt—小柳—原田病 (原田病)

我々は患者の眼内浸潤細胞から T 細胞クローンを樹

立する方法を確立し、この細胞を用いて原田病の発症機構を解析した。原田病患者の眼局所にはメラノサイト関連抗原の tyrosinase に特異的に反応して炎症性サイトカインを産生する $CD4^+$ T リンパ球が存在するが、Behçet 病など他のぶどう膜炎ではそのような T リンパ球は存在しない。また、原田病患者が自己抗原である tyrosinase に感作される機序として、tyrosinase が外来抗原のサイトメガロウイルスのペプチドと構造類似性をもつこと、原田病患者の眼内および末梢血中の T リンパ球はサイトメガロウイルスと tyrosinase の両方に感作されていて免疫学的交差反応を起こすことが明らかとなった。このことから、原田病ではサイトメガロウイルス感染でそのペプチドに感作された $CD4^+$ T リンパ球が脈絡膜や髄膜、内耳、皮膚などに存在するメラノサイトの tyrosinase ペプチドと交差反応を起こすことにより、これらの組織に炎症が生じると考えられる。

2) HTLV-1 ぶどう膜炎

我が国の九州南部に多い HTLV-1 キャリアに生じるぶどう膜炎は、成人 T 細胞白血病や HTLV-1 関連脊髄麻痺と並び、ヒトレトロウイルスの HTLV-1 により生じる独立した疾患である。本症患者の眼局所浸潤細胞を解析することで発症機構の解明がなされ、HTLV-1 感染 $CD4^+$ T リンパ球が眼内に多数集積すること、その眼内浸潤細胞から樹立した HTLV-1 感染 $CD4^+$ T リンパ球は種々の炎症性サイトカインを大量に産生することなどが明らかになり、これらにより眼内炎症が生じると考えられる。

3. 眼内局所防御機構

上記のように眼内に侵入してきた活性化 $CD4^+$ T リンパ球により眼内に一連の免疫反応と炎症が生じるが、その一方で、眼内は“immune privilege site”と呼ばれる特殊な免疫環境となっていて、眼内に侵入してきた活性化 $CD4^+$ T リンパ球の働きを抑制する免疫機構が存在する。我々は外来抗原が眼内に侵入する際に通過する血液眼関門を構築する眼色素上皮細胞に着目し、虹彩色素上皮、毛様体色素上皮、網膜色素上皮の T リンパ球に対する免疫抑制作用について研究した。そして、これ

別刷請求先: 113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科眼科学分野 望月 學

(平成 20 年 10 月 31 日受付, 平成 20 年 12 月 16 日改訂受理) E-mail: m.manabu.oph@tmd.ac.jp

Reprint requests to: Manabu Mochizuki, M.D. Department of Ophthalmology & Visual Science, Tokyo Medical and Dental University Graduate School, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan

(Received October 31, 2008 and accepted in revised form December 16, 2008)

らの眼色素上皮細胞は活性化 $CD4^+$ T リンパ球の増殖反応とサイトカイン産生を非特異的に抑制すること、しかし、その抑制の仕方は前眼部と後眼部では大きく異なり、虹彩色素上皮は T リンパ球と細胞接触することで、一方、網膜色素上皮は可溶性因子により T リンパ球を抑制すること、さらに、これらの色素上皮は眼内に侵入してきた活性化 T リンパ球を制御性 T 細胞に変化させて眼内における免疫抑制作用の増幅を図る特異な機構をもつこと、そして、これらの眼局所防御機構で働く機能分子と遺伝子を明らかにした。これらの機能分子と遺伝

子の相互作用により眼内で生じる制御性 T 細胞は、ヒトのぶどう膜炎の新しい治療法に発展する可能性を秘めているものといえる。(日眼会誌 113 : 344—378, 2009)

キーワード：ぶどう膜炎，発症機構，実験的自己免疫性ぶどう膜炎，活性化 $CD4^+$ T リンパ球，Vogt—小柳—原田病，HTLV-1 ぶどう膜炎，T 細胞クローン，眼色素上皮細胞，眼局所免疫機構，形質転換増殖因子 β ，制御性 T 細胞

A Review

Intraocular Inflammation and Homeostasis of the Eye

Manabu Mochizuki

Department of Ophthalmology & Visual Science, Tokyo Medical and Dental University Graduate School

Abstract

The pathogenic mechanisms of intraocular inflammation had not been well studied until Wacker and his colleagues found retinal soluble antigen (S antigen) and established experimental autoimmune uveitis (EAU), an animal model for autoimmune uveitis. Using this animal model, great progress in understanding the immunopathogenic mechanisms of uveitis was achieved not only in EAU, but also in many inflammatory disorders in humans. Intraocular inflammation is mediated by activated $CD4^+$ T cells. However, the eye has a unique regional immune system which protects intraocular tissues from these pathogenic activated $CD4^+$ T cells and contributes to the homeostasis of the intraocular microenvironment. In the present review article, the role of T cells in immunopathogenic mechanisms of ocular inflammatory disorders as well as in the regional defense system of the eye is highlighted.

1. Immunopathogenic mechanisms of EAU

Experiments using athymic nude rats as well as adoptive transfer of EAU by S-antigen-sensitized T lymphocytes into naïve Lewis rats disclosed that T lymphocytes, particularly $CD4^+$ T lymphocytes, play a central role in the immunopathogenic mechanisms of EAU. In addition, immunopharmacological studies showing the intense effects of cyclosporine on EAU with selective immunosuppression to T lymphocytes allowed us to use clinically the agent to treat patients with refractory uveitis of non-infectious origins, such as Behcet's disease.

2. Immunopathogenic mechanisms of uveitis in human

Two clinical uveitis entities commonly seen in

Japan, i. e. Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease and human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) uveitis, were studied for their pathogenic mechanisms.

(1) VKH disease

We established T cell clones from infiltrating cells in the eyes of VKH patients using limiting dilution methods. $CD4^+$ T cell clones from VKH disease, but not from other uveitis entities, responded to tyrosinase, a melanocyte-associated antigen, and produced inflammatory cytokines, and the response was specific to tyrosinase. Furthermore, DataBank analysis disclosed that tyrosinase had a structural homology with an exogenous antigen, a glycoprotein peptide of cytomegalovirus (CMV). $CD4^+$ T lymphocytes from VKH patients, but not from other diseases, which responded to both tyrosinase and CMV peptide. This indicates that molecular mimicry between CMV peptide and tyrosinase plays an important role in the immunopathogenic mechanisms by which $CD4^+$ T lymphocytes are sensitized to autoantigen of tyrosinase and cause inflammation in VKH disease.

(2) HTLV-1 uveitis

Similar to adult T cell leukemia and HTLV-1 associated myelopathy, uveitis in asymptomatic carriers of HTLV-1, prevalent in southern Kyushu, is a distinct clinical entity associated with HTLV-1, a human retrovirus. We analyzed ocular infiltrating cells and found that (a) HTLV-1-infected $CD4^+$ T lymphocytes were significantly accumulated in the eye, and (b) HTLV-1-infected $CD4^+$ T lymphocytes produced a large amount of various inflammatory cytokines. Thus, $CD4^+$ T lymphocytes play a central

role in the pathogenic mechanisms of HTLV-I uveitis.

3. Regional defense system of the eye

As described above, CD4⁺ T lymphocytes made active by either autoantigens or exogenous pathogens, enter the eye and cause inflammatory responses. However, the eye is known to be an immune privileged site. We focused on ocular pigment epithelial cells because they form a blood-ocular barrier, and they may protect the eye immunologically from infiltrating inflammatory cells. Our major findings by *in vitro* experiments in mice are (a) ocular pigment epithelial cells have the capacity to suppress activated CD4⁺ T lymphocytes; (b) the mode of action of iris pigment epithelial cells (IPE) and retinal pigment epithelial cells (RPE) are different: T lymphocyte suppression by IPE requires cell-to-cell contact, whereas suppression by RPE requires soluble factors, but not cell-to-cell contact; (c) both IPE and RPE have the capacity to generate regulato-

ry T cells (Treg), thereby enhancing immune regulation in the eye.

In conclusion, CD4⁺ T lymphocytes activated by either autoantigens or infectious agents play a central role in the pathogenic mechanisms of ocular inflammation, and ocular resident cells such as IPE and RPE suppress the pathogenic activated CD4⁺ T lymphocytes, thereby contributing to homeostasis of the eye. Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 113 : 344—378, 2009)

Key words : Uveitis, Pathogenic mechanisms, Experimental autoimmune uveitis, Activated CD4⁺ T lymphocytes, Vogt-Koyanagi-Harada disease, HTLV-I uveitis, T cell clones, Ocular pigment epithelial cells, Regional immunity of the eye, Transforming growth factor (TGF) β , Regulatory T cells

I 緒 言

眼内の恒常性維持は高度な視機能を保持するために不可欠である。本稿は、眼内恒常性維持を眼内炎症という病態に焦点を絞り、眼内に炎症を起こす仕組みとそれを防御する機構、特にそれらの分子機構を明らかにしようとするものである。

眼内炎症はさまざまな感染病原体や自己抗原、あるいは、それらに感作され活性化された種々の免疫細胞が眼内に侵入し生じる免疫反応により起こると古くから理解されてきた。病原微生物が眼内に侵入して感染病巣を形成し眼組織を傷害する機序と病態は容易に理解される。しかし、多くの眼内炎症疾患では病原微生物の直接の関与はない。これらの眼内炎症疾患の発症機序と病態に自己免疫機序が関与するであろうことは古くから推察されていたが^{1)~4)}、それが科学的に証明されたのは比較的最近のことである。それは米国の Wacker ら⁵⁾⁶⁾により確立された自己免疫性ぶどう膜炎の動物モデルに始まる。以後、この動物モデルを用い眼内炎症の自己免疫機序の解明が急速に進み^{7)~61)}、その成果はヒトのぶどう膜炎の発症機構の解明と病態の理解、そして治療法の開発に応用されてきている¹¹⁾¹⁶⁾³⁰⁾³⁶⁾³⁷⁾³⁹⁾⁵⁸⁾。

一方、眼内には眼内恒常性を維持するための機構として「血液眼関門」が存在し、眼内に不要なものが侵入できないような解剖学的バリアーとして機能することが古くから知られている。さらに、眼は免疫特権と呼ばれる特殊な免疫環境をもつ器官 (immune privilege site) の一つであることが Streilein ら^{62)~83)}により明らかにされた。その代表的なものが anterior-chamber-associated immune deviation (前房関連免疫偏位、以下 ACAID) と呼

ばれるものである^{62)~67)78)80)}。前房中に投与された抗原は眼内で抗原提示細胞に貪食され、脾臓に運ばれそこで T リンパ球を感作し抗原特異的抑制 T リンパ球が誘導され、眼に投与された抗原に対する特異的な細胞性免疫反応の抑制が誘導される現象である。この ACAID は眼に由来する抗原に対する特異的な免疫抑制である。我々はその考えをさらに推し進め、眼内に侵入する免疫細胞を非特異的に抑制制御する機構が眼内に存在し、眼内の恒常性維持に寄与しているのではないかと考えて、眼局所防御機構に関する研究を進めてきた^{81)~90)}。このような研究から明らかにされる免疫調節分子や細胞は、当然のことながら眼内炎症の制御、すなわち治療にも応用できる可能性を秘めている。

以下に、眼内炎症の発症に関与する分子機構と眼内炎症を制御する眼局所防御の分子機構について述べる。

II 眼内炎症の動物モデルと T リンパ球

ぶどう膜炎の発症機序に自己免疫機序が関与することは、以前より交感性眼炎から推測され¹⁾³⁾、病原性のある眼の自己抗原を求めて多くの研究者が長年にわたって研究を重ねていた。それら研究は交感性眼炎の事例から脈絡膜に自己抗原が存在すると考え脈絡膜の自己抗原を探すものであった²⁾⁴⁾。Wacker らも当初は脈絡膜を対象に研究したが求める自己抗原が得られず、網膜に着目し病原性のある自己抗原を発見し⁵⁾、その成果を 1977 年にまとめて発表した⁶⁾。この抗原は網膜の可溶性成分から分離精製された分子量約 55 kDa の蛋白質で、これをモルモットの眼から離れた足に完全フロインドアジュバントとともに免疫すると約 2 週間後に抗原が存在する両眼と松果体に炎症が起こる (図 1)。その後、モルモット

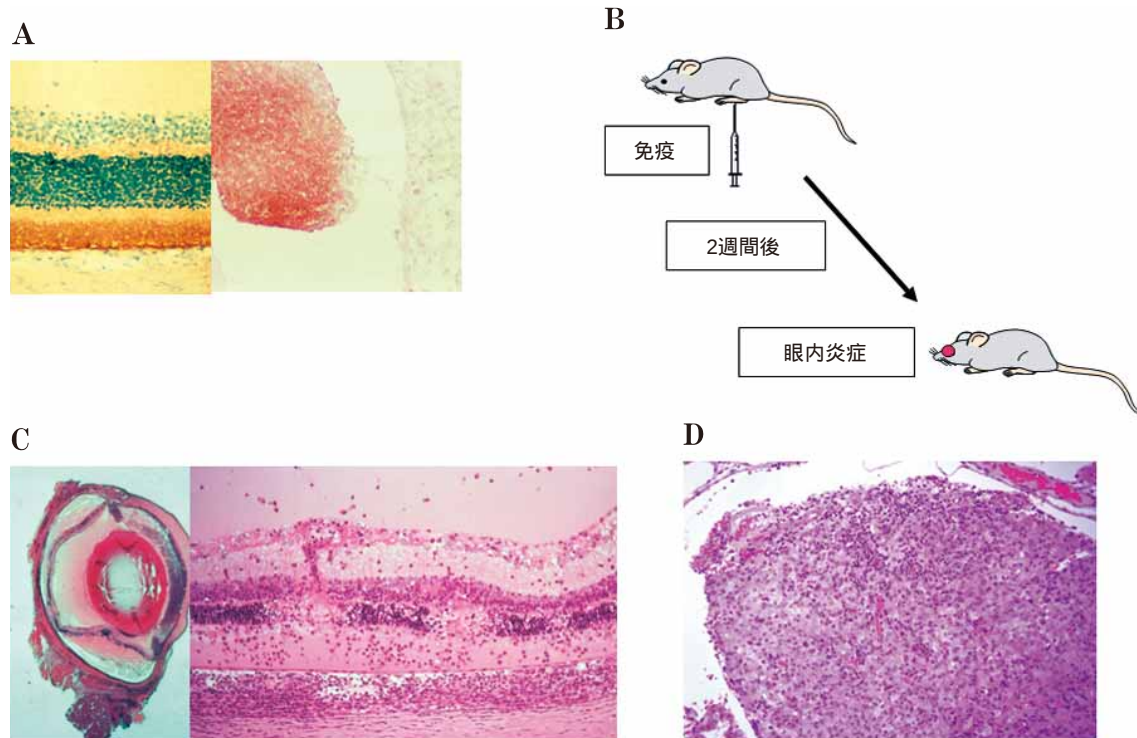


図 1 実験的自己免疫性ぶどう膜炎(EAU)。

- A : S 抗原の局在. S 抗原は網膜視細胞層と松果体に存在する(免疫組織化学染色).
 B : EAU の惹起方法. S 抗原と完全フロイドアジュバントをラット足蹠に注射する.
 C : EAU を生じた眼球(左)と網脈絡膜の病理組織像(右).
 D : 松果体. S 抗原が存在する松果体にもリンパ球浸潤を伴う炎症が生じる.

の他にラット¹²⁾, マウス²⁶⁾³⁵⁾, サル¹³⁾などの実験動物でも同様の眼内炎症が生じることが報告され, この抗原は網膜可溶性抗原(retinal soluble antigen : S 抗原)と命名され, S 抗原の免疫で惹起される眼内炎症は実験的自己免疫性ぶどう膜炎(experimental autoimmune uveitis : EAU)と呼ばれている. EAU を起こす網膜抗原は S 抗原の他にも interphotoreceptor retinoid binding protein (IRBP)³¹⁾, phosducin³⁸⁾, recoverin⁴²⁾など多くの網膜関連蛋白質が報告されている.

EAU の発症機序を解明することはヒトのぶどう膜炎の発症機序の解明と治療に有用な知識をもたらすと考えられる. 当初はラットとモルモットが用いられた. Salinas-Carmona ら¹⁵⁾は先天的に胸腺が欠如し T リンパ球がないヌードラットでは EAU を発症しないことから, EAU の発症には T リンパ球が重要であると報告した. 我々²³⁾は S 抗原で免疫した Lewis ラットからリンパ球を取り出して, さらに *in vitro* で抗原刺激を加えて感作を強化することによりナイーブなレシピエントラットに EAU を移入できること, なかでも CD4⁺T リンパ球で強く移入できることを示した. これらの研究から自己免疫性ぶどう膜炎の動物モデルでは, T リンパ球, 特に CD4⁺T リンパ球がその発症機序に深くかかわることが明らかとなった. その後, EAU はマウス²⁶⁾³⁵⁾においても再現性高く誘導できる方法が開発され, 免疫学的

解析の可能性が飛躍的に広がりさまざまな研究が行われ, 現在では EAU の発症機構は以下のように理解されている(図 2). すなわち, アジュバントとともに免疫された網膜自己抗原は免疫局所でマクロファージなどの抗原提示細胞に貪食され, 脾臓や所属リンパ節においてリンパ球に提示され, リンパ球を感作する. 感作されたリンパ球のうち CD4⁺T リンパ球が EAU 発症の方向に働き²³⁾, CD8⁺T リンパ球は逆に EAU 発症抑制の方向に働く. CD4⁺T リンパ球はインターフェロン γ (IFN- γ)などの Th1 サイトカインを産生する Th1 細胞とインターロイキン 4(IL-4)などの Th2 サイトカインを産生する Th2 細胞に分類されるが, Th1 細胞は EAU を発症・増悪させ⁴⁰⁾⁴¹⁾⁴⁵⁾, Th2 細胞は EAU を抑制すること⁵²⁾が明らかとなっている. 最近, IL-6 と形質転換増殖因子 β (transforming growth factor β , 以下 TGF- β)で刺激誘導され免疫応答で重要な働きをする Th17 細胞が EAU の発症と病態形成においても最も重要であることが報告されている^{57)59)~61)}. このように, 自己免疫性ぶどう膜炎の動物モデルでは網膜自己抗原に感作された CD4⁺T リンパ球, 特に, Th1 細胞あるいは Th17 細胞が重要である.

ところで, この EAU は種々の眼内炎症の治療薬の開発にも応用できる. EAU を用いた免疫薬理学研究で, T 細胞を選択的に抑制する新しい免疫抑制薬のシクロ

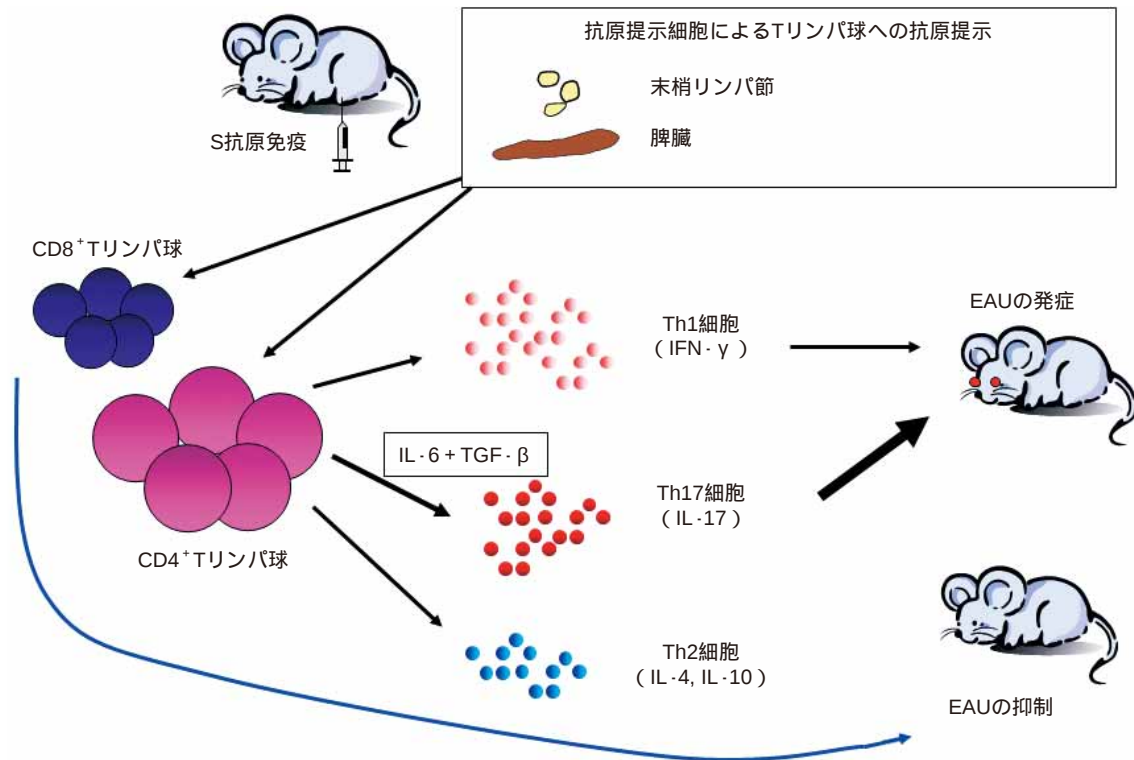


図 2 実験的自己免疫性ぶどう膜炎(EAU)発症機構の模式図.

S 抗原：網膜可溶性抗原，IL：インターロイキン，Th：ヘルパー T 細胞，TGF-β：形質転換増殖因子 β，IFN-γ：インターフェロン γ.

スポリンは従来の免疫抑制薬と比べて著しく効果的であることが示された¹⁴⁾¹⁷⁾²⁴⁾³⁶⁾³⁹⁾。その成果に基づいて、シクロスポリンは Behçet 病をはじめとする種々の難治性ぶどう膜炎の治療に臨床応用され¹⁶⁾³⁰⁾，現在では広く世界中で用いられている。その後，我が国で開発された T リンパ球選択的抑制薬の FK 506 (タクロリムス)をはじめとする多くの新しい免疫抑制薬の効果が EAU で解析された^{28)32)~37)}。

EAU という自己免疫性ぶどう膜炎の動物モデルにおいては，その発症機構に活性化 CD4⁺T リンパ球が重要な働きをしており，CD4⁺T リンパ球から産生される Th1 サイトカインと Th17 サイトカインは眼内炎症の発症と病態形成の機能分子として働くと考えられる。

III ヒトの眼内炎症の発症機構と T リンパ球

ヒトのぶどう膜炎の発症機構に関して自己免疫性ぶどう膜炎の Vogt—小柳—原田病，ならびに，感染性ぶどう膜炎の HTLV-1 ぶどう膜炎について考察し，ヒトの眼内炎症においても活性化 T リンパ球が重要な働きをすることを以下に述べる。

なお，本稿に記したヒトの検体を用いたすべての研究は，久留米大学と東京医科歯科大学の倫理委員会の承認を得て，患者からインフォームドコンセントを得たうえで行われたものである。

1. Vogt—小柳—原田病(以下，原田病)

1) 原田病の小史

本症はスイスの Alfred Vogt⁹¹⁾により初めて報告された。頭髮，眉毛，睫毛の白髪化を伴うぶどう膜炎患者の症例報告であるが，眼病変の記載はわずかであった。その後，1914 年に小柳美三⁹²⁾により眼病変の詳しい記載がなされ，患者の眼底所見を「恰モ夕照ノ天空ヲ觀ルガ如シ」と表現し，本疾患の眼所見のランドマークともいえる今日の夕焼け状眼底の所見が記載されていることは特記に値する。その後，1926 年に原田永之助⁹³⁾が本症の 5 例について，その発病初期から晩期に至るまでの自然経過を詳細に記載し，本症の本態は脈絡膜の炎症であると述べている。当時の暗い眼底鏡という悪条件を勘案すると驚嘆すべきことといえる。これら二人の先達の注意深い観察と正確な記載なくして本症の疾患概念の確立はなかったと考えられる。

2) 原田病の臨床と病理

原田病は非外傷性の両眼性ぶどう膜炎で，感冒様症状などの前駆症状の数日後に突発性に発症し，両眼の眼底後局部に多発性滲出性網膜剝離を伴うぶどう膜炎が生じる。この急性眼病期には頭痛，嘔気，耳鳴，難聴などの眼外症状を伴い，髄液検査で小リンパ球増多を伴う無菌性髄膜炎，聴覚検査では感音性難聴がみられる。発病から数か月後には，全身的には脱毛，頭髮や眉毛，睫毛の白髪化，皮膚白斑，眼科的には夕焼け状眼底などの脱色

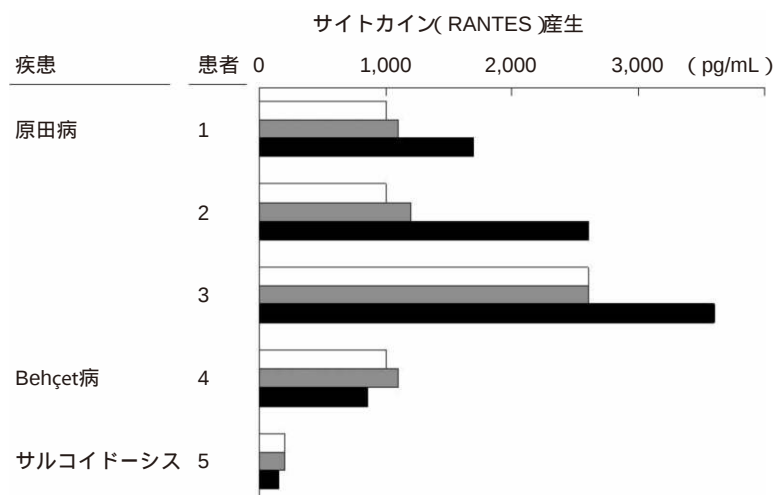


図 3 Vogt—小柳—原田病(原田病)患者眼局所から樹立した T 細胞クローンの tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂に対する反応. 原田病患者の T 細胞クローンは tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂に反応して RANTES を産生したが, 対照ペプチド (HA₃₀₇₋₃₁₉)には反応しない. 一方, Behçet 病とサルコイドーシス患者から樹立した T 細胞クローンにはこのような反応はない.

□: PBS, ■: インフルエンザウイルスペプチド (HA₃₀₇₋₃₁₉), ■: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂.

(文献 100, Table 1 から許可を得て転載, 改変)

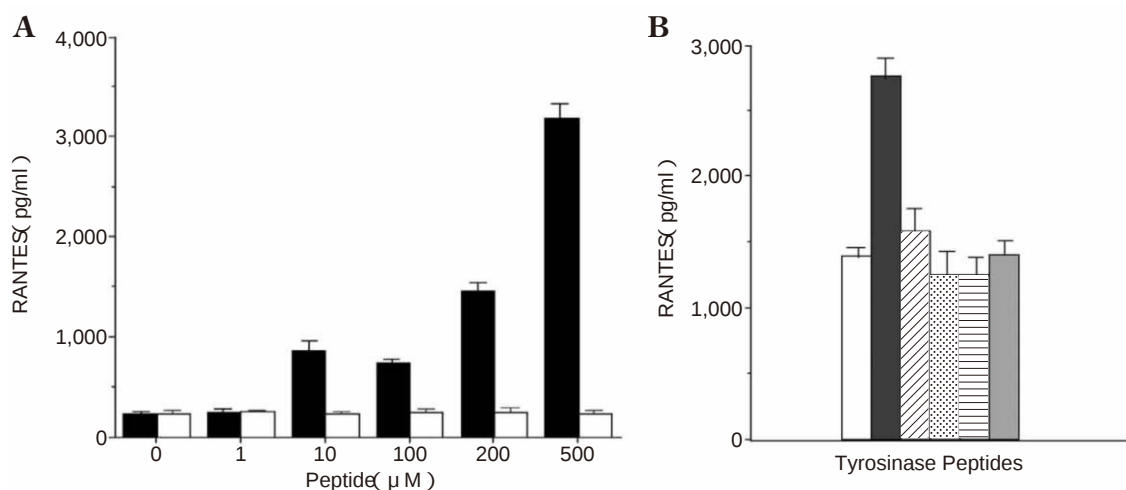


図 4 原田病患者眼局所から樹立した T 細胞クローンの tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂に対する反応.

A: 原田病 T 細胞クローンの tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂に対する用量依存性の検討.

原田病 T 細胞クローンは tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂の用量に依存的に RANTES を産生したが, 対照のインフルエンザウイルスペプチドには反応しない.

■: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂, □: インフルエンザウイルスペプチド.

B: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂のアナログに対する原田病 T 細胞クローンの反応.

原田病 T 細胞クローンは tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂と 1 つアミノ酸配列がずれた tyrosinase₄₅₁₋₄₆₂およびアミノ酸が 1 か所だけ変化したアナログに反応しない.

□: ペプチド無添加, ■: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂, ▨: tyrosinase₄₅₁₋₄₆₂, ▩: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ (Y 451 を Q に変換), ▪: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ (L 452 を Q に変換), ▫: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ (D 456 を V に変換).

(文献 100, Figure 2 から許可を得て転載, 改変)

素現象が生じる. このような臨床症状に加えて, 本症患者が有色人種に多く白人には少ないことなどから, 本症はメラノサイトに対する自己免疫疾患と長らく考えられてきた. 本症の病理組織像もその仮説を支持するものである. 猪俣⁹⁴⁾の原田病患者眼病理組織の報告によると,

発病早期の多発性滲出性網膜剥離を呈する眼では, 脈絡膜のメラノサイトを取り囲むように無数のリンパ球の浸潤がみられ, 一方, 晩期の夕焼け状眼底を呈している時期の眼では, 脈絡膜のリンパ球は消退し, 脈絡膜の多数存在していたメラノサイトも完全に消失している. この

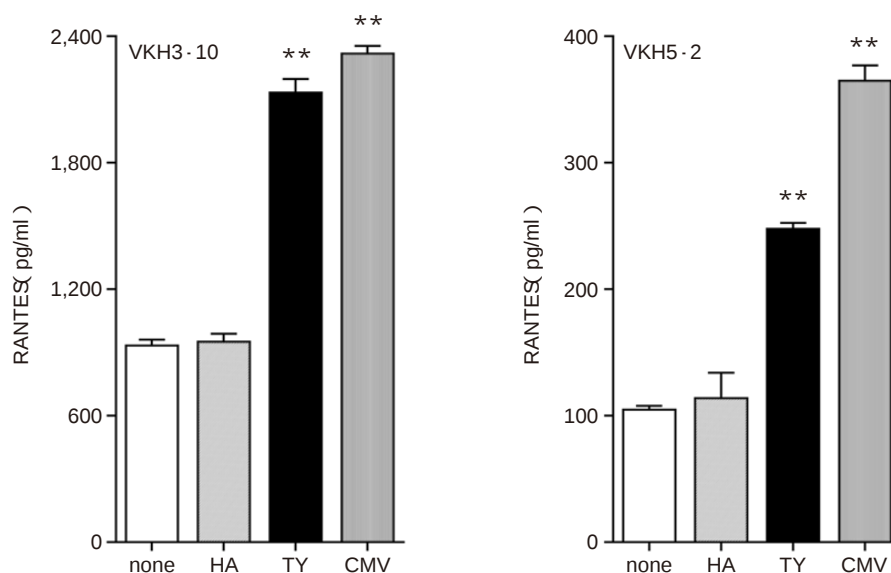


図 5 原田病患者眼局所から樹立した T 細胞クローンの tyrosinase ペプチドとサイトメガロウイルスペプチドに対する反応。

原田病患者 6 名の眼局所から樹立した T 細胞クローンの tyrosinase と CMV に対する反応性を RANTES 産生により測定した。原田病患者の眼局所 T 細胞クローンは抗原無添加(none)と対照ペプチドには反応しなかったが、tyrosinase と CMV の両者に強く反応し RANTES を産生した。図にはその代表的な 2 名の結果を示す。

VKH: 原田病, HA: インフルエンザウイルスペプチド(HA₃₀₇₋₃₁₉ ペプチド, 対照ペプチド), TY: tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂, CMV: サイトメガロウイルスペプチド(CMV-egH₂₉₀₋₃₀₂). **: p<0.005.

(文献 100, Figure 4 から許可を得て転載, 改変)

ような病理組織像は、本症では脈絡膜のメラノサイトがリンパ球浸潤の標的となり脈絡膜炎が生じていることを示すものである。

3) 原田病の発症機構

本症ではどのような機序で自己のリンパ球が自己のメラノサイトを標的とした免疫反応が生じるのか、また、そもそもメラノサイトの中のどのような抗原が原田病の原因抗原であるのかが長い間謎であった。Yamaki ら^{(95)~(98)}は、メラノサイト関連抗原の一つでメラニン合成に関与する tyrosinase という酵素に着目し、原田病患者末梢血リンパ球が tyrosinase ペプチドに感作されていること、tyrosinase ペプチドをラットに免疫すると両眼性の汎ぶどう膜炎を生じるのみならず免疫 8 週間後には眼底の脱色素現象を起こし、臨床的には夕焼け状眼底を呈し、病理組織学的にも脈絡膜のメラノサイトが消失すること、さらに、全身的にも皮膚白斑などを生じる原田病の動物モデルを作ること成功した。これらのことから、原田病の原因自己抗原はメラノサイト関連抗原の一つである tyrosinase であることが明らかにされた。

我々は患者の眼局所に浸潤している炎症細胞から樹立した T 細胞クローンを用いてその分子機構を解析した^{(99)~(100)}。原田病患者前房水中の炎症細胞から樹立した CD4⁺T 細胞クローンは tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ ペプチドに反応して RANTES などのサイトカインを産生したが、対照抗原として用いたインフルエンザウイルスの HA₃₀₇₋₃₁₉

ペプチドにはまったく反応せず、また、Behçet 病など他のぶどう膜炎患者からの T 細胞クローンにはこのような反応がなかった⁽¹⁰⁰⁾(図 3)。この反応は tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ の用量に依存し、また tyrosinase ペプチドの構造にも依存した⁽¹⁰⁰⁾(図 4)。原田病末梢血リンパ球においても同様の結果が得られた。これらのことは、原田病患者だけに、tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ ペプチドに特異的に反応してサイトカインを産生する CD4⁺T リンパ球が末梢血と眼内に存在し、これらの CD4⁺T リンパ球が眼や全身臓器のメラノサイト上の tyrosinase に対して免疫反応を起こして炎症を生じることを示唆するものである。

しかし、どのような機序で原田病患者のリンパ球が自己抗原である tyrosinase に感作されるのかが不明である。我々は、tyrosinase が何らかの外来抗原と類似の構造を有していて、その外来抗原に感作されたリンパ球が自己抗原の tyrosinase と免疫学的交差反応を起こすのではないかという仮説を立てて、tyrosinase ペプチドと外来抗原の構造類似性を GenBank を用いてデータ解析した⁽¹⁰⁰⁾。その結果、tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ はサイトメガロウイルス(以下、CMV)のエンベロープ糖蛋白質の一つである CMV-egH₂₉₀₋₃₀₂ ペプチドと構造類似性があり、13 個のアミノ酸配列のうち 6 個までが同一であった。特に、この 6 個のアミノ酸配列は HLA クラス II 抗原に提示される重要なモチーフであった。そこで我々は原田病患者のリンパ球が CMV と tyrosinase との両方の抗原に免疫

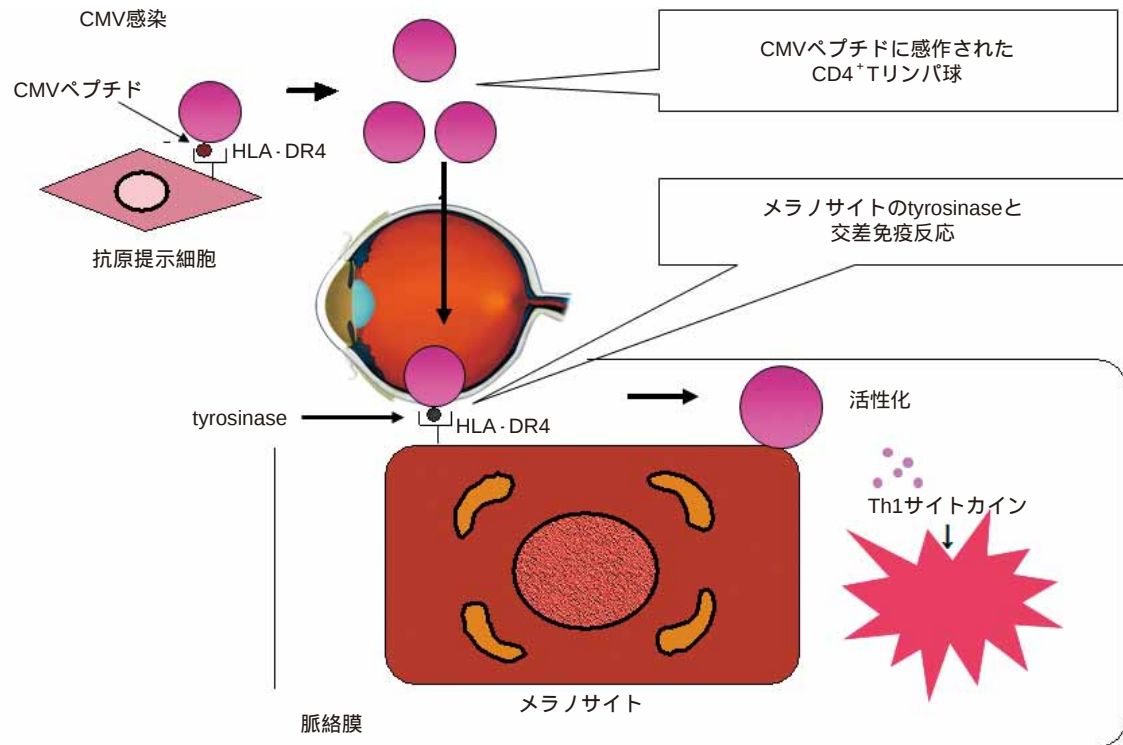


図 6 原田病の発症分子機構の仮説.

サイトメガロウイルス(CMV)の潜伏感染状態で、CMV 感作 CD4⁺T リンパ球が末梢血中に循環している。CMV 感作 CD4⁺T リンパ球は CMV ペプチドと tyrosinase ペプチドの構造類似性のために、眼内や内耳、髄膜などに存在するメラノサイト上の tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ を認識して、免疫学的交差反応を起こしてサイトカイン産生などを生じ炎症が生じる。

CMV：サイトメガロウイルス，Th：ヘルパー T 細胞。

学的反応性をもつかをリンパ球増殖試験で検討した。原田病患者の末梢血から樹立した CD4⁺T 細胞株は tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ と CMV-egH₂₉₀₋₃₀₂ の両方のペプチドに対して高い増殖反応を示したが、対照抗原の HA₃₀₇₋₃₁₉ に対しては増殖せず、さらに、原田病以外(Behçet 病、健康人)の患者はこれらの抗原にまったく反応しなかった。さらに、原田病患者の眼局所に浸潤している炎症細胞から樹立した T 細胞クローンについて検討したところ、末梢血と同様に tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ と CMV-egH₂₉₀₋₃₀₂ の両方のペプチドに対して高い増殖反応を示した(図 5)。

我が国では成人の大半が周産期に CMV に初感染しその後は潜伏感染となっている。CMV 潜伏感染の状態では、末梢血の T リンパ球は CMV に曝露され、CMV-egH₂₉₀₋₃₀₂ に感作された CD4⁺T リンパ球が末梢血に存在すると思われる。この CMV 感作 CD4⁺T リンパ球が眼内あるいは内耳、髄膜などに存在するメラノサイトの tyrosinase₄₅₀₋₄₆₂ をその構造類似性のために自己抗原と認識して免疫学的交差反応を起こし、これらの組織に炎症が生じるのではないかと考えられる(図 6)。しかも、tyrosinase ペプチドは HLA-DRB 1*0405 拘束性であり、原田病が HLA-DRB 1*0405 と高い正の相関があるという報告¹⁰¹⁾とも一致している。

このように、自己免疫性ぶどう膜炎の代表ともいえる

原田病の発症機構においては、自己抗原であるメラノサイト関連抗原の tyrosinase に感作され活性化した CD4⁺T リンパ球が中心的な働きをしている。

2. HTLV-1 ぶどう膜炎

1) HTLV-1

ヒト T リンパ球向性ウイルス 1 型(human T-lymphotropic virus type 1: HTLV-1)、あるいはヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型(human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1)はヒトレトロウイルスのオンコウイルスに属する RNA ウイルスである。主として CD4⁺T リンパ球に感染し、ウイルス RNA はウイルス自身の逆転写酵素により相補的 DNA(プロウイルス DNA)となり宿主細胞の染色体に組み込まれ、宿主細胞の遺伝子と同じように細胞分裂により娘細胞へと伝えられて増殖する^{102)~104)}。このような特殊な感染状態であるために、抗体の存在下でもウイルスは排除されることなく存在し、感染者は生涯にわたってウイルスキャリアとなる。HTLV-1 は輸血、性交渉、母乳のいずれかで伝播するが、我が国では 1986 年から輸血に際して HTLV-1 スクリーニング検査が行われるようになりウイルス感染者は減少している。HTLV-1 は特異な地理的分布をしており、世界的には中央アフリカ、カリブ海諸島、南アメリカ、そして、我が国では九州南部と離島(奄岐、対馬、

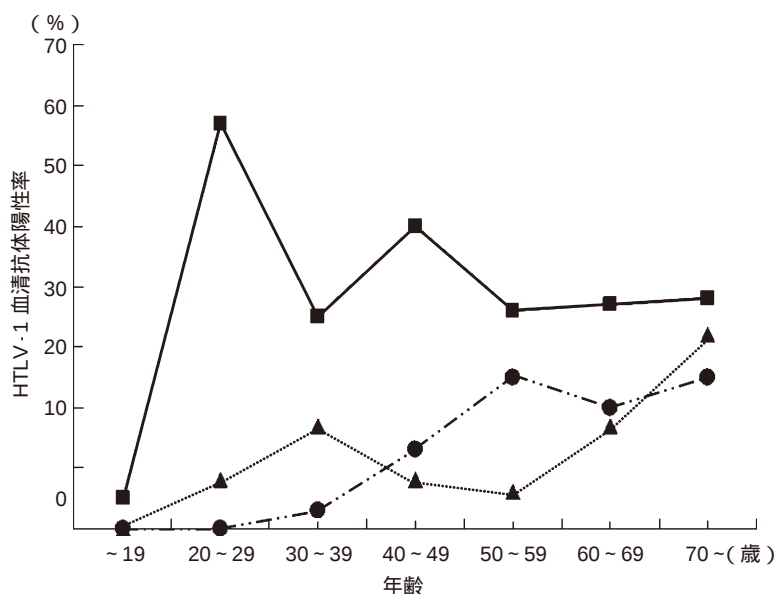


図 7 原因不明のぶどう膜炎患者の HTLV-1 血清抗体陽性率(宮崎県都市部).

原因不明のぶどう膜炎患者群は、原因が明らかな既知のぶどう膜炎患者群、およびぶどう膜炎以外の眼疾患患者群に比べて、HTLV-1 血清抗体陽性率が全年齢層で有意に高く、特に若年成人群で高かった^{121)~123)}。

■：原因不明のぶどう膜炎群，▲：原因が明らかなぶどう膜炎群，●：ぶどう膜炎以外の眼疾患群。

HTLV-1：ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型。

五島列島)などにウイルスキャリアが多い¹⁰⁵⁾。

HTLV-1 は、ヒトの悪性腫瘍の原因となることが初めて証明されたレトロウイルスであり、成人 T 細胞白血病/T 細胞リンパ腫 (adult T-cell leukemia, 以下 ATL) の病因ウイルスである¹⁰⁶⁾¹⁰⁷⁾。ATL は HTLV-1 感染 T 細胞がモノクローナルな増殖を起こしてきた場合に生じる^{102)~104)106)107)}。一方、ポリクローナル増殖の場合、感染 T 細胞は悪性化しないが、強力に活性化され種々の炎症性サイトカインやケモカイン、接着分子を発現し炎症を生じる¹⁰⁸⁾。その典型例が HTLV-1 関連脊髄麻痺 (HAM) と呼ばれている神経系の炎症疾患である¹⁰⁹⁾¹¹⁰⁾。

2) HTLV-1 キャリアにみられるぶどう膜炎の疫学、臨床像

大庭¹¹¹⁾、中尾ら¹¹²⁾により HAM 患者と HTLV-1 無症候キャリアに眼病変、特にぶどう膜炎が多いことが報告されて以来、九州を中心に各地から HTLV-1 感染者の眼病変の症例報告^{113)~120)}がなされた。我々は九州南部の HTLV-1 高浸淫地域に位置する宮崎県都市部の宮田眼科病院と、HTLV-1 浸淫率が少し低い福岡県久留米市の久留米大学病院において一連の疫学的、臨床的、ウイルス学的研究を行った^{121)~137)}。疫学研究としては HTLV-1 感染とぶどう膜炎に関する血清疫学調査^{121)~123)}と、筑後地方、長崎県対馬における本症の罹患率調査¹³⁶⁾¹³⁷⁾を行った。都城においては、原因不明のぶどう膜炎患者における血清抗 HTLV-1 抗体陽性率は、既知の原因のぶどう膜炎患者ならびにぶどう膜炎以外の眼疾患患者の二つの対照群に比較して有意に高く¹²²⁾(図 7)、HTLV-1 感染の

ぶどう膜炎発病に関する相対危険度(odds 比)は 11.0 であり、久留米市においても相対危険度は 5.8 であった¹²³⁾。このことから、HTLV-1 感染は、当時原因不明とされていたぶどう膜炎の発症危険因子、すなわち発病原因の一つであることが明らかになった。血清抗 HTLV-1 抗体が陽性のぶどう膜炎患者の眼症状は、中等度～高度の硝子体混濁を伴い、軽度の虹彩炎はみられるものの、出血や白斑などの網脈絡膜病変はない、いわゆる中間部ぶどう膜炎を呈するものが、HTLV-1 抗体陰性者のぶどう膜炎患者よりも有意に多く、患者の多くに共通する眼症状の特徴があった¹²²⁾¹²⁴⁾¹³¹⁾¹³³⁾。全身症状を調べると、ほとんどすべての患者は ATL を伴っていないが、約 17% (女性患者の 25%) に甲状腺機能異常を伴う Graves 病の既往¹²⁵⁾¹²⁶⁾があり、Graves 病の既往のある患者はない患者に比べて末梢血 HTLV-1 ウイルス量が有意に高値であった¹³⁵⁾。このような疫学調査と臨床像の解析から、HTLV-1 血清抗体陽性者 (HTLV-1 キャリア) に生じるぶどう膜炎は、HTLV-1 に起因する疾患で、従来から知られている ATL や HAM とは独立した疾患であると考えられ、HTLV-1 関連ぶどう膜炎、あるいは HTLV-1 ぶどう膜炎と呼ばれるようになった。本症は、ウイルス感染が原因の疾患であるにもかかわらず副腎皮質ステロイド薬がきわめて有効で、軽症ではステロイド点眼薬だけで、重症ではその内服により炎症は軽快し、眼内に器質的障害を残さないで治癒し視力予後も良好なものが多い¹²²⁾¹²⁴⁾。しかし、患者の約半数に炎症の再発がみられる¹²²⁾。

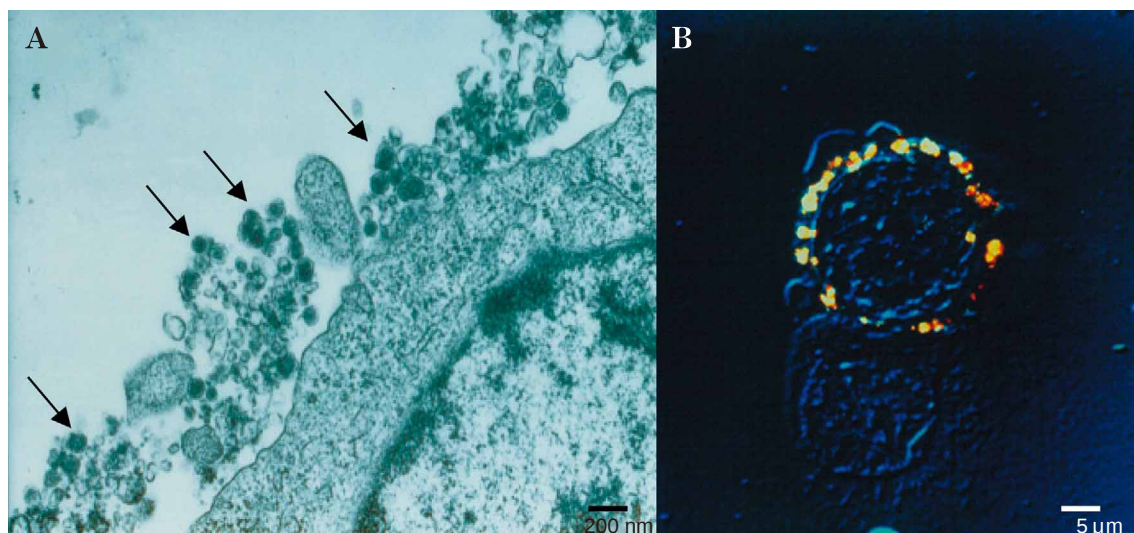


図 8 HTLV-1 ぶどう膜炎患者前房浸潤細胞から樹立した T 細胞クローン(TCC).

A : 電子顕微鏡で直径 100 nm のウイルス粒子(矢印)が多数検出された. パー: 200 nm.

B : HTLV-1 gag p19 蛋白質が免疫フルオレセイン染色法により TCC 細胞表面に同定された(共焦点レーザー顕微鏡写真). パー: 5 μ m.

(文献 129, Figure 2, 3 から許可を得て転載, 改変)

表 1 HTLV-1 ぶどう膜炎患者眼内浸潤細胞から樹立した HTLV-1 感染 CD4⁺T 細胞クローンのサイトカイン産生と副腎皮質ステロイドの作用

サイトカイン	サイトカイン産生(平均値 $\pm$ 標準偏差, pg/ml)		p 値
	培養液単独	Hydrocortisone (1 μ M)	
IL-1 α	12,699 $\pm$ 16549	7,974 $\pm$ 10176	NS
IL-2	61 $\pm$ 8	95 $\pm$ 24	<0.05
IL-3	428 $\pm$ 57	128 $\pm$ 25	NS
IL-4	0	0	
IL-6	8,358 $\pm$ 707	4,713 $\pm$ 4574	<0.05
IL-8	1,268 $\pm$ 544	926 $\pm$ 602	NS
IL-10	28 $\pm$ 28	6 $\pm$ 8	NS
TNF- α	272 $\pm$ 185	145 $\pm$ 83	NS
IFN- γ	5,095 $\pm$ 2748	2,019 $\pm$ 1905	<0.02
GM-CSF	2,886 $\pm$ 641	2,438 $\pm$ 807	NS

IL: インターロイキン, TNF- α : 腫瘍壊死因子 α , IFN- γ : インターフェロン γ , GM-CSF: 顆粒球単球コロニー刺激因子.

(文献 129, Table 2 から許可を得て転載, 改変)

3) HTLV-1 ぶどう膜炎の発症機構と CD4⁺T リンパ球

HTLV-1 が本症の発症にどのようにかかわっているかを知るために, 我々は患者の末梢血と前房水を用いて解析した. その結果, ① HTLV-1 ぶどう膜炎患者の末梢血ウイルス量はぶどう膜炎のない無症候性キャリアよりも有意に高かった¹²⁸⁾, ② 患者の前房水中に浸潤している細胞の大半が CD3⁺ の T リンパ球であり¹³⁴⁾, その T リンパ球受容体はポリクローナルであったことから ATL などの悪性細胞ではなく炎症細胞である¹³⁰⁾, ③ 前房浸潤細胞をポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction: PCR)法で検査し患者の大半(38 人中 37 人)か

ら HTLV-1 プロウイルス DNA が検出されたが, 偶々 HTLV-1 抗体陽性であった他のぶどう膜炎患者では 4 人中 1 人からしか検出されなかった¹³⁴⁾, ④ 前房中の HTLV-1 ウイルス量は末梢血のウイルス量よりも高い¹³⁴⁾, ⑤ 患者の前房中浸潤細胞から樹立した CD4⁺T 細胞クローンには多数の HTLV-1 ウイルス粒子が電子顕微鏡により観察され¹²⁹⁾(図 8), HTLV-1 蛋白質も免疫染色で同定された¹²⁹⁾(図 8)こと, などが明らかになった. これらのことは, HTLV-1 ぶどう膜炎患者の眼局所に HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球が集積していることを示している.

次に, HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球の機能について

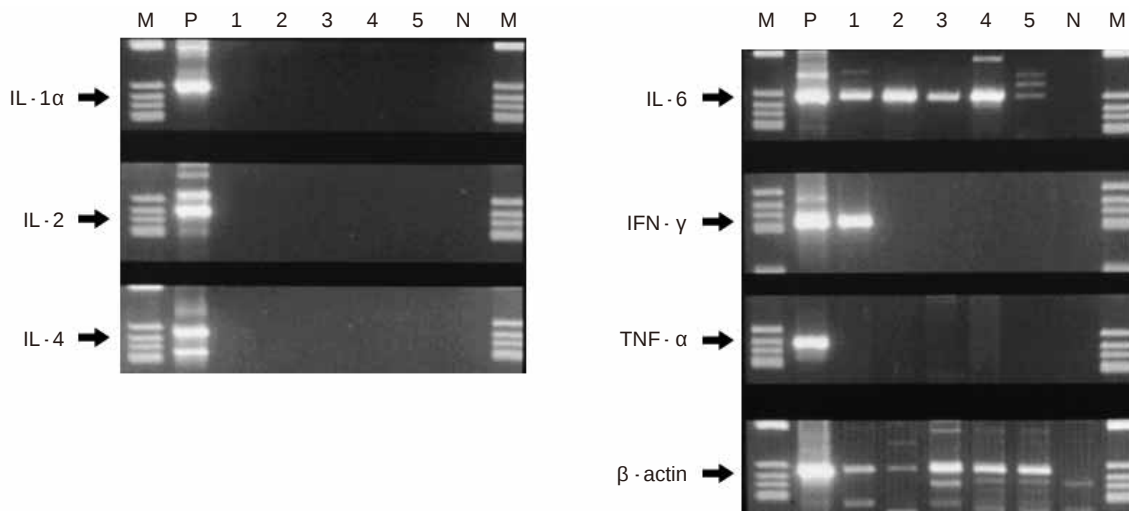


図 9 HTLV-1 ぶどう膜炎患者前房浸潤細胞のサイトカイン産生.

HTLV-1 ぶどう膜炎患者から採取した新鮮な前房水中の細胞は IL-6 以外のサイトカインを産生しない.

IL: インターロイキン, IFN- γ : インターフェロン γ , TNF- α : 腫瘍壊死因子 α , M: 分子量マーカー, P: 陽性対照, N: 陰性対照, 1~5: HTLV-1 ぶどう膜炎患者.

(文献 134, Figure 6 から許可を得て転載, 改変)

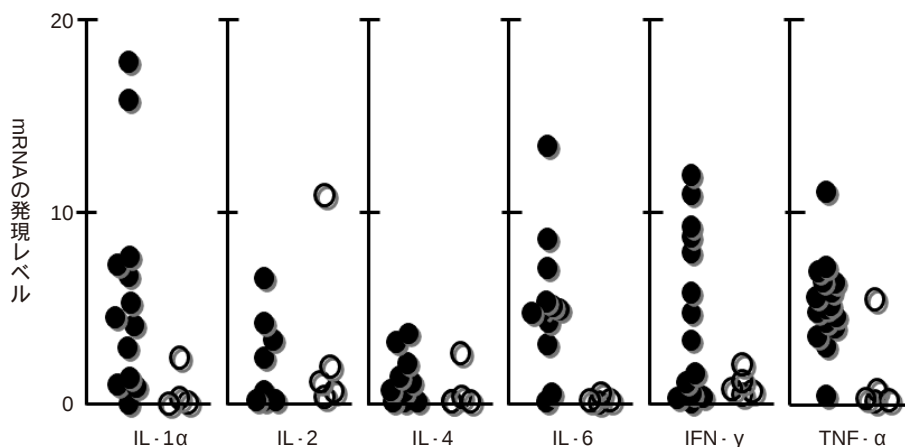


図 10 末梢血顆粒球のサイトカイン産生能.

HTLV-1 ぶどう膜炎患者の末梢血顆粒球は多くのサイトカインを発現している.

●: HTLV-1 ぶどう膜炎患者, ○: 健常者. IL: インターロイキン, IFN- γ : インターフェロン γ , TNF- α : 腫瘍壊死因子 α .

て、眼局所から樹立した T 細胞クローンを用いて解析した¹²⁹⁾. HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球は種々の炎症性サイトカインを大量に産生していたのに対して、HTLV-1 非感染 CD4⁺T リンパ球はこれらの炎症性サイトカインをまったく産生しない. さらに、HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球の培養液中に副腎皮質ステロイド薬を添加するとサイトカイン産生は強く抑制された¹²⁹⁾ (表 1). このことは、HTLV-1 ぶどう膜炎は HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球が産生する炎症性サイトカインにより生じる眼内炎症であることを示すものである. また、副腎皮質ステロイド薬が臨床的に本症の治療に有効であるのは、先に述べた実験で示されたように副腎皮質ステロイドが HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球によるサイトカ

イン産生を抑制することによって考えられる.

4) HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球の房水による抑制
ところで、本症の発症機構を解析している中で大変に奇妙な現象に遭遇した. それは、患者前房浸潤細胞から樹立した HTLV-1 感染 CD4⁺T 細胞クローンは種々のサイトカインを産生していた¹²⁹⁾ (表 1) が、患者から採取した新鮮な房水中の HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球はほとんどのサイトカインを産生していない¹³⁴⁾ (図 9), という現象である. そこで、患者の末梢血の HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球を調べると、この末梢血リンパ球は T 細胞クローンと同様に種々のサイトカインを産生していた (図 10). 図 11 にまとめるように、末梢血に循環している HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球はサイトカインを産

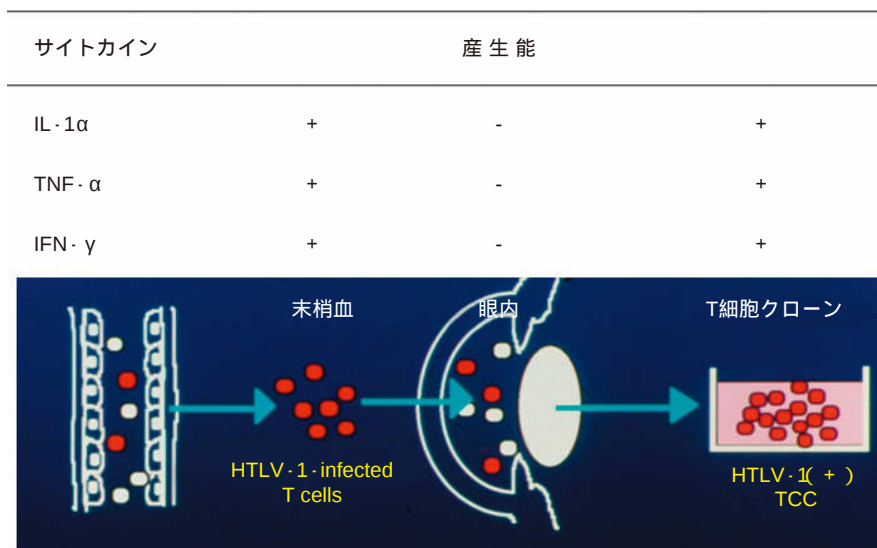


図 11 HTLV-1 ぶどう膜炎患者の眼内と末梢血リンパ球のサイトカイン産生能のまとめ.

HTLV-1 ぶどう膜炎患者では、末梢血中の HTLV-1 感染 T リンパ球(図中赤丸)は種々のサイトカイン(IL-1 α , TNF- α , IFN- γ)を産生するが、眼内のそれはサイトカインを産生しない. しかし、その細胞から T 細胞クローンを樹立するとサイトカインを産生ようになる.

IL: インターロイキン, IFN- γ : インターフェロン γ , TNF- α : 腫瘍壊死因子 α .

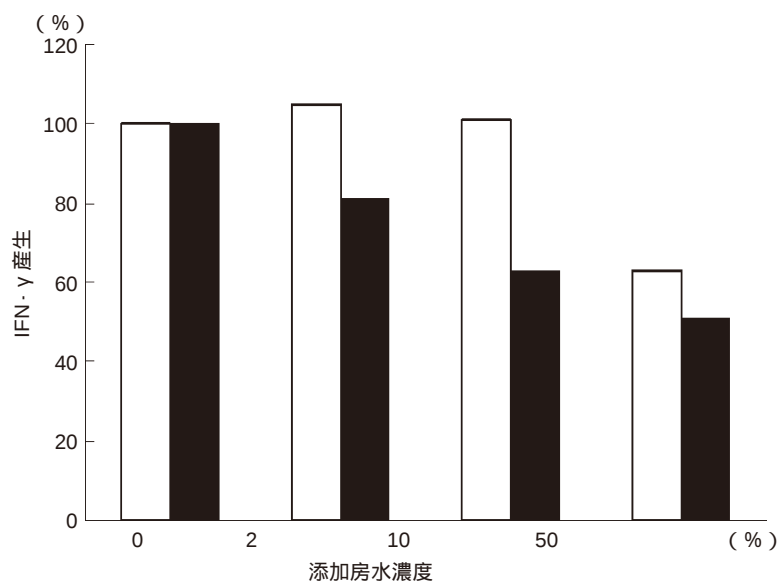


図 12 房水による HTLV-1 感染 T リンパ球抑制作用.

ぶどう膜炎のない加齢白内障患者の手術時に採取した前房水は、HTLV-1 感染 T リンパ球のサイトカイン(IFN- γ)産生を用量依存的に抑制する.

■: 白内障患者の前房水, □: PBS(陰性対照). IFN- γ : インターフェロン γ .

生するが、眼内に浸潤した HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球はサイトカインを産生せず、この浸潤細胞から樹立した T 細胞クローンはサイトカインを産生する。このことは何を意味するのであろうか？ もし、房水に HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球を抑制する作用があるという仮説を立てれば、これらの現象は非常によく説明できる。そこで、この仮説を検証する目的で、加齢白内障の手術時に採取した前房水を HTLV-1 感染 CD4⁺T 細胞クローンの培養液に添加して、T 細胞クローンのサイ

トカイン産生能を測定した。前房水は添加する濃度に依存して HTLV-1 感染 CD4⁺T 細胞クローンのサイトカイン産生を抑制した(図 12)。この前房水中の抑制因子は加熱により失活し、抗 TGF- β 抗体でも中和されなかったことから TGF- β ではないと考えられ、房水に存在することが知られている免疫抑制活性をもつ vasoactive intestinal peptide(VIP)⁽⁵³⁾⁽¹³⁸⁾ や α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH)⁽¹³⁹⁾ とはその分子量が異なった。この HTLV-1 感染 CD4⁺T リンパ球を抑制する作用のある房

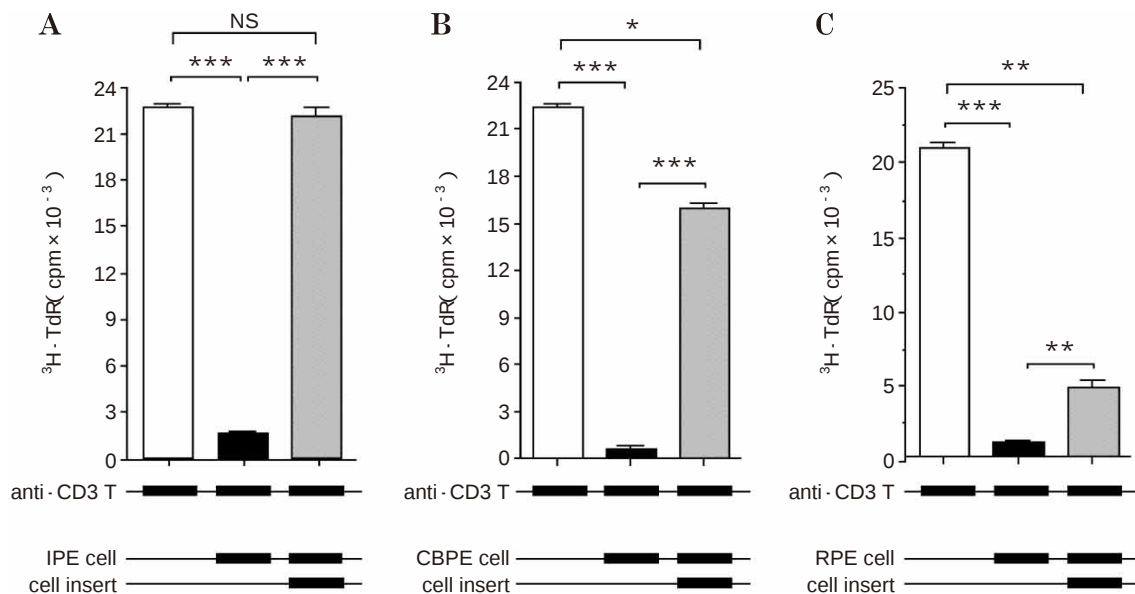


図 13 眼色素上皮の活性化 T リンパ球抑制作用とその抑制様式。

虹彩色素上皮, 毛様体色素上皮, 網膜色素上皮はいずれも活性化 CD4^+ T リンパ球の増殖反応を抑制する。虹彩色素上皮による抑制は cell insert で消失するが, 網膜色素上皮のそれは cell insert の影響をまったく受けない。

A: 虹彩色素上皮, B: 毛様体色素上皮, C: 網膜色素上皮。

$^3\text{H-TdR}$: サイミジン取り込み, cpm: count per minutes, anti-CD3T: 抗 CD3 抗体存在下で活性化させた CD4^+ T リンパ球, IPE: 虹彩色素上皮, CBPE: 毛様体色素上皮, RPE: 網膜色素上皮, cell insert: 細胞間に挿入膜。

NS: 有意差なし, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.005$, ***: $p < 0.001$ 。

(文献 81, Figure 1 から許可を得て転載, 改変)

水中の抑制因子の同定は未解決であるが, この現象は眼内に活性化 CD4^+ T リンパ球を抑制する局所防御機構が存在することを示しており, 眼内の恒常性維持に重要な働きをしていると考えられる。そこで, 我々は眼内の局所防御機構とその分子機構を解明することを目的として, 以下の研究を行った。

IV 眼の局所防御機構と眼色素上皮細胞

1. 眼の防御機構と immune privilege

眼には解剖学的に血液眼関門が存在し眼内への異物などの侵入を防御している。これらのバリアーが破綻した場合に, 眼にとって有害な細胞や物質が自由に眼内に侵入することを防ぐために第2のバリアーとして免疫学的なバリアーが存在すると考えられる。Streilein ら^{(62)~(83)}は, 眼は中枢神経や精巣などとともに免疫特権の存在する特殊な部位 (immune privilege site) であることを支持する多くの研究成果を報告している。その代表的なものは前房関連免疫偏位 (ACAID)^{(62)~(67)(78)(80)}であるが, これは眼由来の抗原に対し脾臓を介して抗原特異的な細胞性免疫だけが抑制されるという現象である。我々^{(81)~(90)}は, 眼の局所防御機構には ACAID のような抗原特異的な免疫抑制だけでなく, 非特異的な免疫抑制機構も存在し, それは血液眼関門の部位に存在する可能性が高いと考え

て, 眼の色素上皮細胞に注目して研究した。

2. 眼色素上皮細胞の免疫抑制作用

1) 免疫抑制の様式

C57BL/6 マウスから虹彩色素上皮細胞, 毛様体色素上皮細胞, 網膜色素上皮細胞を切り出して primary culture とし, 抗 CD3 抗体の存在下でマウス CD4^+ T リンパ球と培養すると, いずれの眼色素上皮細胞も抗 CD3 抗体で活性化された CD4^+ T リンパ球の増殖反応を強く抑制した⁽⁷⁶⁾⁽⁷⁷⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁸¹⁾(図 13)。すなわち, 眼の色素上皮細胞は非特異的に活性化された CD4^+ T リンパ球の増殖を抑制する免疫抑制作用があるといえる。また, 色素上皮細胞と T リンパ球の間に一種の膜 (cell insert membrane) を入れて二つの細胞を分離し, 可溶性成分は膜を通過して細胞間を行き来できるが, 2 種類の細胞同士の接触はできないような培養条件にすると, ①虹彩色素上皮による活性化 CD4^+ T リンパ球抑制作用は消失する, ②網膜色素上皮の作用は変化なく CD4^+ T リンパ球を強く抑制する, ③毛様体色素上皮は虹彩色素上皮と網膜色素上皮の中間程度の抑制作用を示した⁽⁷⁶⁾⁽⁷⁷⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁸¹⁾。このことから, 虹彩色素上皮は細胞同士が直接接触することにより T リンパ球を抑制し, 網膜色素上皮は可溶性因子を介して T リンパ球を抑制し, 毛様体色素上皮は細胞接触と可溶性因子の両方を用いて T リンパ球を抑制す

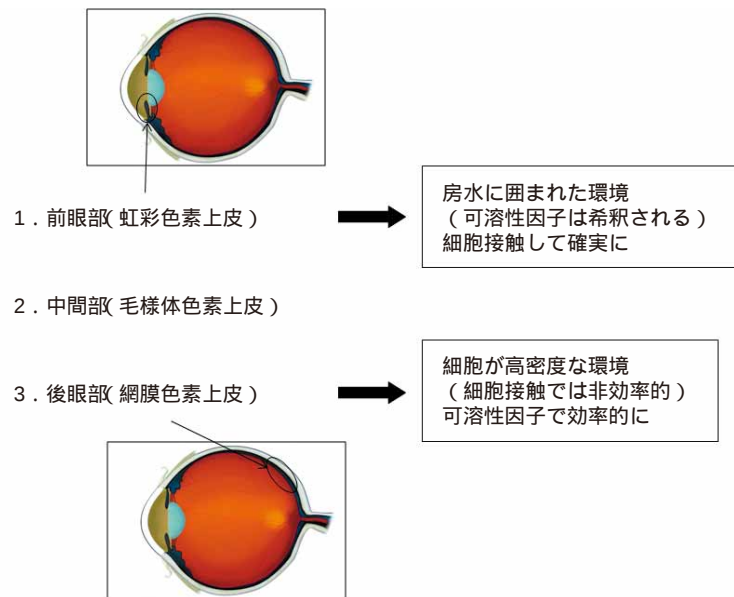


図 14 前眼部と後眼部の微小環境の相違と免疫抑制の様式の相違の仮説.

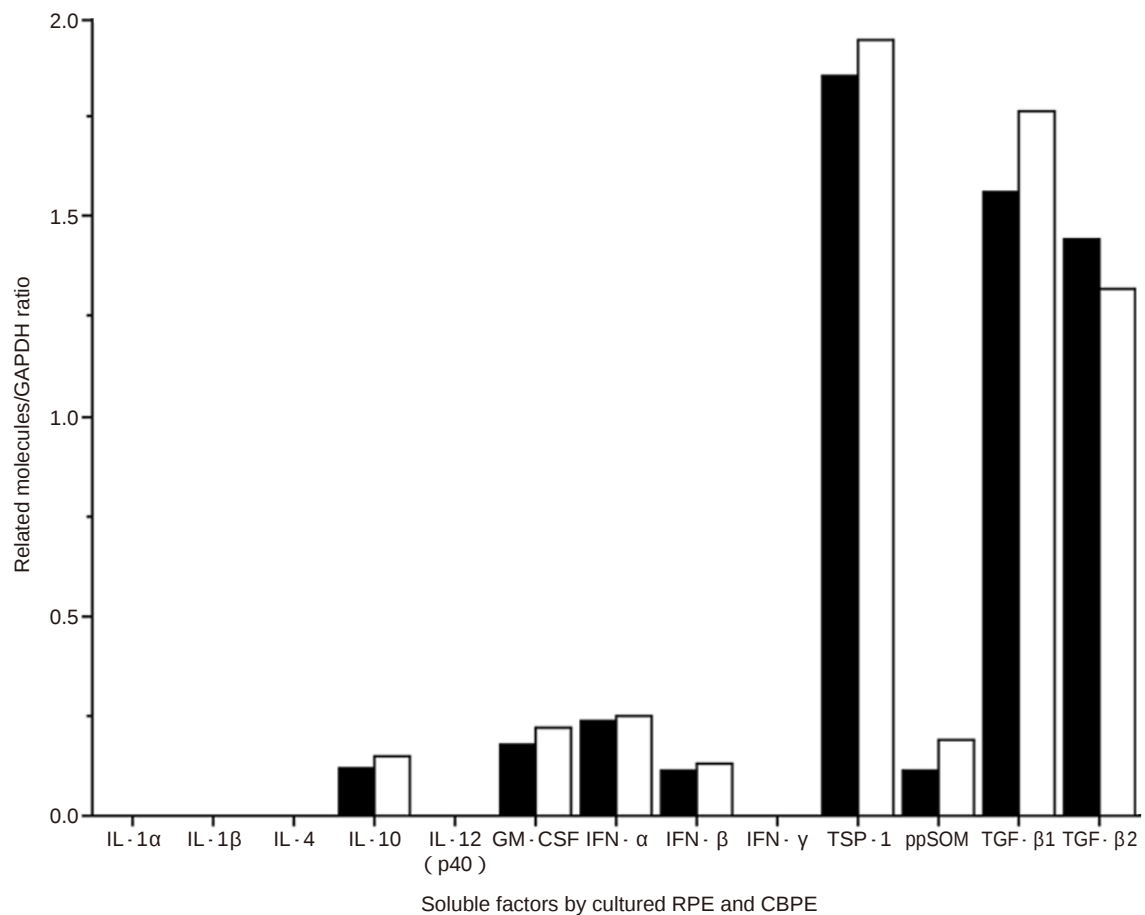


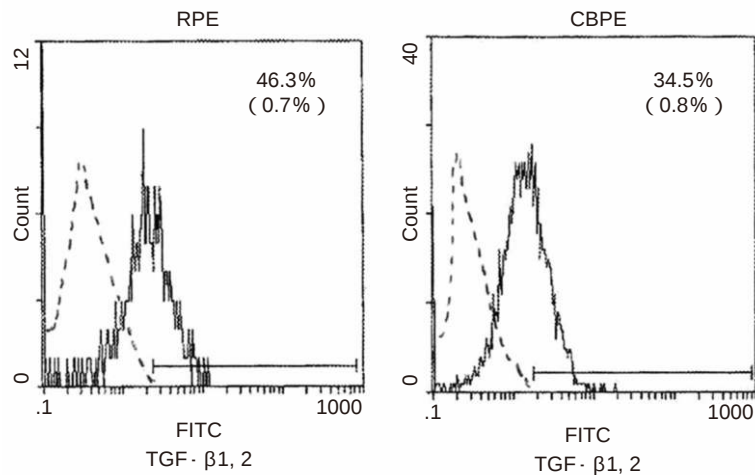
図 15 網膜色素上皮と毛様体色素上皮の可溶性因子.

網膜色素上皮と毛様体色素上皮に発現している因子を解析し、TSP-1 と TGF-β1, TGF-β2 の特に高い発現がみられた。

□：網膜色素上皮，■：毛様体色素上皮. IL：インターロイキン，GM-CSF：顆粒球単球コロニー刺激因子，IFN-γ：インターフェロン γ，TSP-1：thrombospondin-1，ppSOM：somatostatin，TNF-α：腫瘍壊死因子 α，TGF-β：形質転換増殖因子 β.

(文献 85, Figure 4 から許可を得て転載, 改変)

A



B

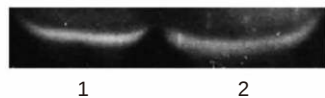


図 16 網膜色素上皮と毛様体色素上皮における TGF- β の発現.

A : 網膜色素上皮と毛様体色素上皮の TGF- β 陽性細胞 (フローサイトメトリー法)

網膜色素上皮では TGF- β 1, 2 陽性細胞が 46.3%, 毛様体色素上皮では 34.5% も検出された.

RPE : 網膜色素上皮, CBPE : 毛様体色素上皮, TGF- β : 形質転換増殖因子 β .

B : 網膜色素上皮と毛様体色素上皮の培養上清のウェスタンブロット.

網膜色素上皮と毛様体色素上皮の培養上清に TGF- β 1, 2 が蛋白質レベルで検出され, これらの色素上皮は TGF- β を産生・分泌すると考えられる.

1 : 網膜色素上皮の培養上清, 2 : 毛様体色素上皮の培養上清.

(文献 85, Figure 6 から許可を得て転載, 改変)

ると結論される.

一見複雑で奇妙とも思えるこのような 3 種類の眼色素上皮細胞の作用様式の違いは何故起こるのであろうか? 眼内微小環境における 3 種類の眼色素上皮細胞の解剖学的な場所と関係があるのではないかと考えられる. すなわち, 虹彩色素上皮は前眼部の房水に囲まれた環境に位置しているので, 虹彩色素上皮が可溶性因子を分泌しても房水により希釈されると考えられる. したがって, 前眼部では細胞同士が直接接触することで免疫抑制作用を効率的に行うのではなかろうか (図 14). 一方, 種々の細胞が密度高く存在する後眼部に位置する網膜色素上皮は, 細胞接触による免疫抑制では効率が悪く可溶性因子を用いるのではないかと考える. 眼の長い進化の過程でこのような巧妙な仕組みが出来上がってきたものと思うと, その仕組みの巧妙さに畏敬の念を覚えざるを得ない.

2) 網膜色素上皮細胞の免疫抑制分子機構

それでは, 網膜色素上皮の免疫抑制作用に寄与する可溶性因子はどのような物質であろうか? 我々は, 網膜色素上皮と毛様体色素上皮の培養液の可溶性因子の遺伝

子発現を検討したところ, thrombospondin-1 (TSP-1) と TGF- β が特に強く発現しており⁸⁵⁾ (図 15), これらの可溶性因子が重要と考えられたので, それぞれについて網膜色素上皮における発現と機能についてさらに詳しく解析した.

(i) TGF- β

元来, TGF- β は強力な免疫抑制物質としてよく知られている. この強力な免疫抑制因子が網膜色素上皮の培養液中に存在するだけでなく, 網膜色素上皮に遺伝子レベルと蛋白質レベルで発現しているかどうかを reverse transcription (RT)-PCR とフローサイトメトリーで調べたところ, TGF- β は網膜色素上皮と毛様体色素上皮で産生分泌されていることが判明した⁸⁵⁾ (図 16). 次に TGF- β がどのような機序で T リンパ球を抑制するかを知るために, 我々は dominant negative TGF- β 受容体マウス (DN TGF- β R マウス) という遺伝子改変マウスを用いて解析した. この遺伝子改変マウスの T リンパ球細胞表面の TGF- β 受容体からは TGF- β シグナルが入らない特殊なマウスである. 網膜色素上皮は野生型マウスの活性化 CD4⁺ T リンパ球の増殖反応は強く抑制したのに

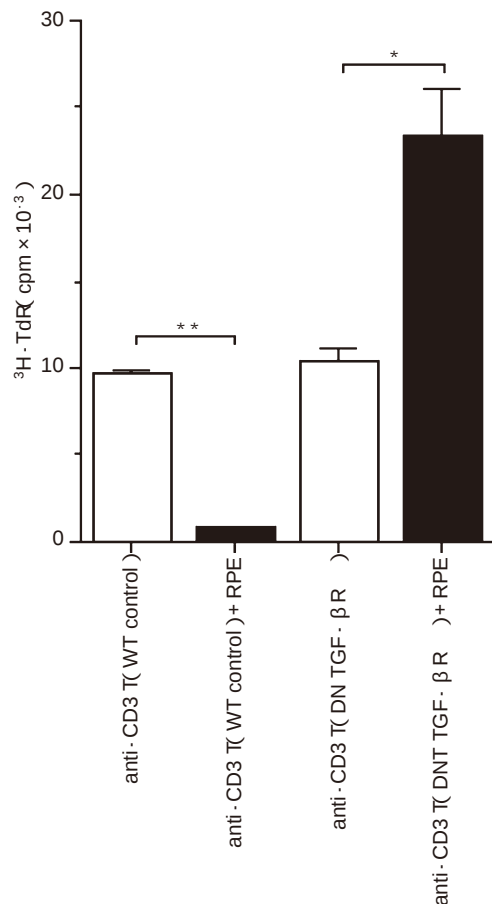


図 17 網膜色素上皮と毛様体色素上皮の T リンパ球抑制と TGF- β シグナル.

TGF- β シグナルが T リンパ球上の受容体に入らない遺伝子改変マウス (DN TGF- β R II) 由来の T リンパ球は網膜色素上皮と毛様体色素上皮で抑制されない. 野生型マウスの T リンパ球は網膜色素上皮と毛様体色素上皮で抑制される.

anti-CD3 T : 抗 CD3 抗体で刺激活性化された T リンパ球, WT : 野生型マウス, RPE : 網膜色素上皮, DN TGF- β R II : dominant negative TGF- β 受容体マウス, $^3\text{H-TdR}$: サイミジン取り込み, cpm : count per minutes.

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.005$.

(文献 85, Figure 5 から許可を得て転載, 改変)

対して, DN TGF- β R マウスの CD4 $^{+}$ T リンパ球の増殖反応は抑制せず, むしろ増強した⁸⁵⁾(図 17). このことから, 網膜色素上皮で産生分泌された TGF- β のシグナルが適正に活性化 CD4 $^{+}$ T リンパ球に入ることにより T リンパ球が抑制されると結論される. このように強力な免疫抑制活性をもつ TGF- β が生体内に無秩序に発現することは, 生体にとってきわめて危険である. しかし, 通常の生体で TGF- β は免疫抑制作用のない潜伏型 TGF- β として存在し, 特定の刺激を受けてはじめて活性型 TGF- β に変換され免疫抑制機能を発揮する. 網膜色素上皮においてもこのような巧妙な制御機構が働いており, その制御分子が次に述べる TSP-1 であることが

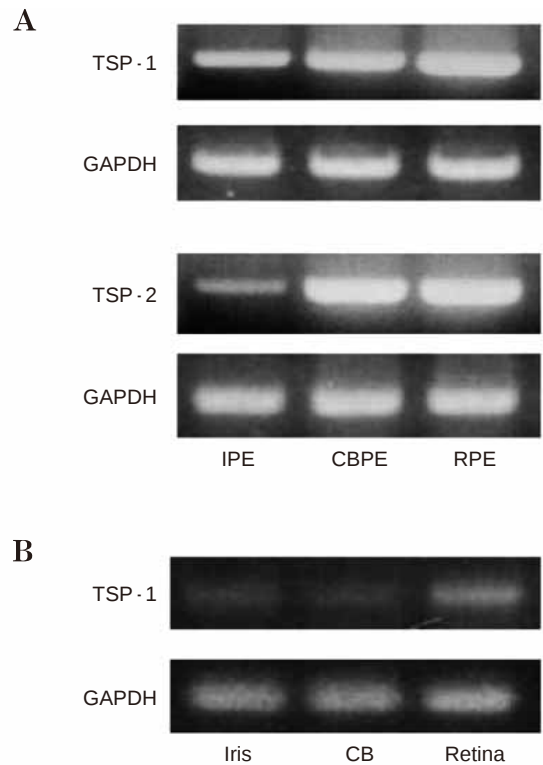


図 18 Thrombospondin-1 (TSP-1) の発現.

A : 培養眼色素上皮. TSP-1 は虹彩色素上皮, 毛様体色素上皮, 網膜色素上皮の primary culture 細胞で遺伝子発現している.

TSP-1 : thrombospondin-1, TSP-2 : thrombospondin-2. IPE : 虹彩色素上皮, CBPE : 毛様体色素上皮, RPE : 網膜色素上皮.

B : 組織. TSP-1 は虹彩, 毛様体, 網膜の新鮮組織においても遺伝子発現しているが, 特に網膜での発現が強い.

CB : 毛様体.

(文献 86, Figure 1 から許可を得て転載, 改変)

我々の研究で明らかとなった.

(ii) Thrombospondin-1 (TSP-1)

TSP-1 の発現を 3 種類の眼の色素上皮細胞において RT-PCR とフローサイトメトリーで調べたところ, TSP-1 は遺伝子レベルでも蛋白質レベルでも 3 つの色素上皮細胞に発現していたが, 特に網膜色素上皮に強く発現していた⁸⁶⁾(図 18). その機能を調べるために, 種々の抑制因子に対する中和抗体で網膜色素上皮を前処置したところ, 抗 TSP-1 抗体だけが網膜色素上皮の T リンパ球抑制作用を中和した⁸⁵⁾(図 19). さらに, 網膜色素上皮の TGF- β 産生能に TSP-1 がどのような作用をもつかについてリコンビナント TSP-1 (rTSP-1) を用いて調べたところ, rTSP-1 は RPE の total TGF- β の産生には影響しなかったが, 活性型 TGF- β 産生分泌を強く増強した⁸⁶⁾(図 20). これらのことから, TSP-1 は網膜色素上皮に存在し, 潜伏型 TGF- β を活性型の可溶性 TGF- β に変換させる重要な作用があると考えられる.

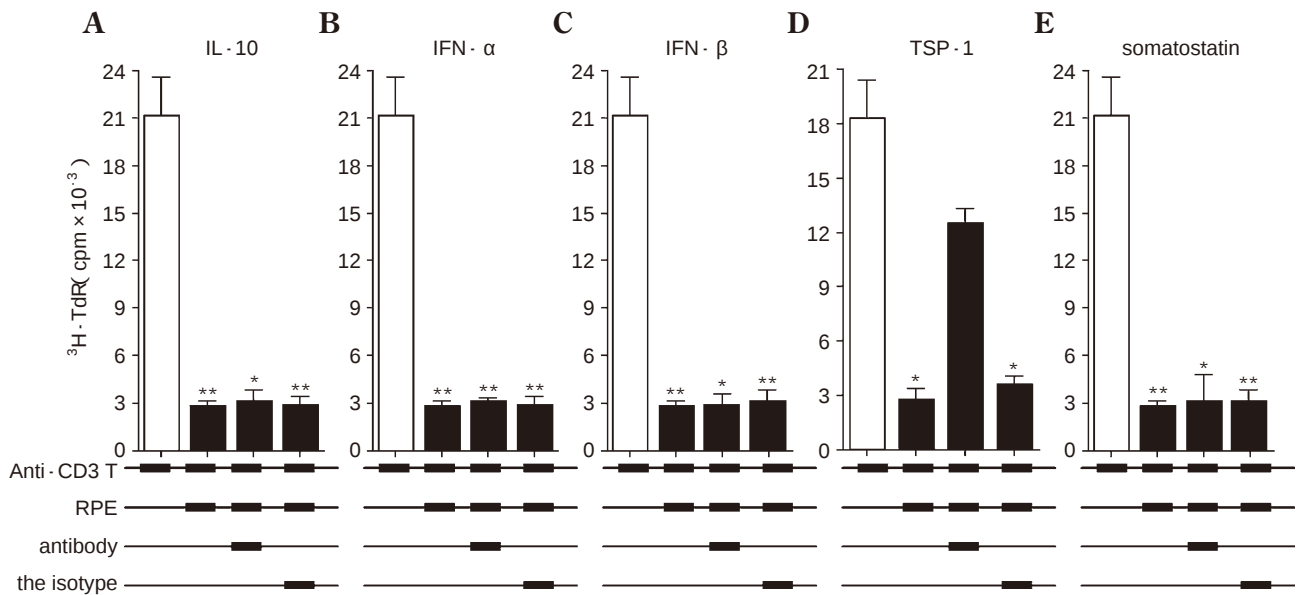


図 19 各種可溶性因子中和抗体が網膜色素上皮に対する作用。

網膜色素上皮の活性化 CD4⁺T リンパ球抑制作用が各種の可溶性因子の抗体で中和されるかを検討した。抗 TSP-1 抗体でのみ強く中和された。

A~E: それぞれ IL-10, IFN-α, IFN-β, TSP-1, somatostatin の中和抗体で網膜色素上皮を前処理した後に T リンパ球と共培養した群。

IL: インターロイキン, IFN: インターフェロン, TSP-1: thrombospondin-1

³H-TdR: サイミジン取り込み, cpm: count per minutes, anti-CD3 T: 抗 CD3 抗体で活性化された T リンパ球, RPE: 網膜色素上皮。

*: p<0.05, **: p<0.005.

(文献 85, Figure 7 から許可を得て転載, 改変)

(iii) 網膜色素上皮の活性化 CD4⁺T リンパ球抑制の分子機構

以上のことから、我々は、網膜色素上皮の T リンパ球抑制分子機構は以下の如くであると考え (図 21)。すなわち、網膜色素上皮に存在する TSP-1 により潜伏型 TGF-β が活性化型の可溶性 TGF-β に変換されて分泌され、その可溶性 TGF-β が CD4⁺T リンパ球細胞表面の TGF-β 受容体に結合し TGF-β シグナルが T リンパ球に入ることにより CD4⁺T リンパ球が抑制される。

3) 虹彩色素上皮細胞の免疫抑制分子機構

前述したように、前眼部に位置し房水に囲まれた環境に存在する虹彩色素上皮は T リンパ球と直接細胞同士が接触することで活性化 T リンパ球の増殖反応を抑制する。この虹彩色素上皮と T リンパ球との細胞接触を媒介するものはどのような物質であろうか？ 以下に述べる研究から虹彩色素上皮細胞表面に発現されている B7-2 分子と T リンパ球表面に発現されている cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (以下, CTLA-4) 分子が重要な働きをすることが明らかとなった。

(i) B7-2 分子

我々は、3 種類の眼色素上皮細胞において、細胞表面に発現され免疫抑制作用をもつことが知られている種々の分子の発現を RT-PCR 法により比較検討した。多く

の候補分子の中で、B7-2 (CD 86) 分子は虹彩色素上皮で強く発現され、毛様体色素上皮ではごくわずかに発現され、網膜色素上皮ではまったく発現されていなかった⁸¹⁾ (図 22)。フローサイトメトリーによる蛋白質発現も同様に虹彩色素上皮でのみ強く発現されていた。虹彩色素上皮細胞表面において発現され網膜色素上皮では発現されていない B7-2 分子が、虹彩色素上皮にユニークな細胞接触による T 細胞抑制に関与している可能性が強く示唆される。そこで、B7-2 分子の機能を解析するために B7-2 ノックアウトマウス (B7-2 KO マウス) を用いて実験した。野生型マウス由来の 3 種類の色素上皮細胞は活性化 CD4⁺T リンパ球の増殖反応を強く抑制したが、B7-2 KO マウス由来の虹彩色素上皮は抑制できなかった⁸¹⁾ (図 23)。一方、B7-2 KO マウス由来の網膜色素上皮や毛様体色素上皮は虹彩色素上皮と異なり活性化 CD4⁺T リンパ球を抑制した。これらのことから、虹彩色素上皮は細胞表面に発現している B7-2 分子を介して T リンパ球を抑制すると結論される。

元来、B7-2 分子は T リンパ球活性化過程における副刺激分子としてよく知られている分子であり¹⁴⁰⁾¹⁴¹⁾、そのリガンドとしては CTLA-4 が知られている¹⁴²⁾。そこで、我々は虹彩色素上皮と接触する活性化 CD4⁺T リンパ球に CTLA-4 が発現されているかを検討した。

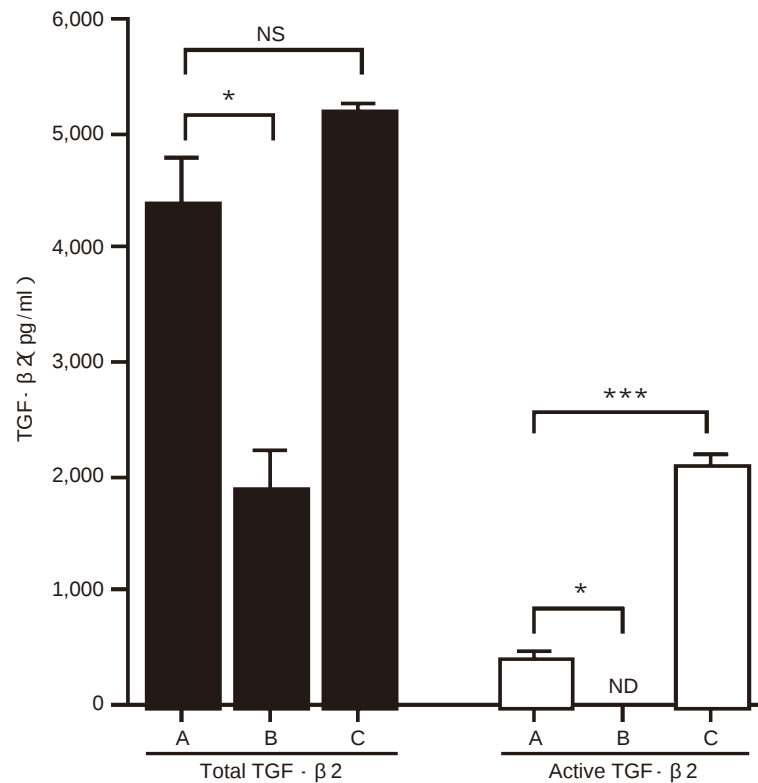


図 20 リコンビナント TSP-1 の網膜色素上皮 TGF-β 産生に対する作用。

網膜色素上皮培養上清に含まれる TGF-β2 をバイオアッセイで測定した。網膜色素上皮を抗 TGF-β2 抗体で処理すると網膜色素上皮培養上清中の TGF-β2 は減少した。一方、リコンビナント TSP-1 で処理すると網膜色素上皮培養上清中の総 TGF-β2 量は変化しないが活性型 TGF-β2 が増加した。

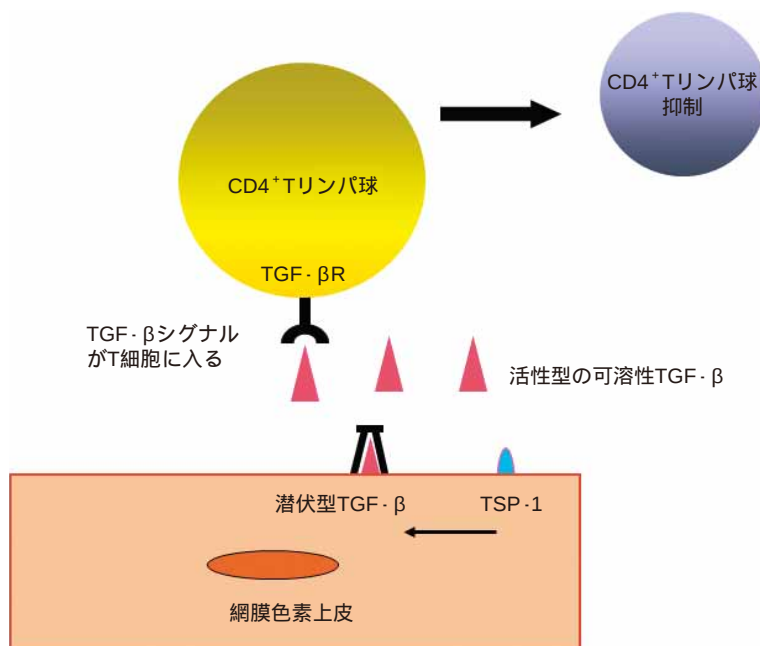
■：総 TGF-β2, □：活性型 TGF-β2

A：網膜色素上皮, B：網膜色素上皮+抗 TGF-β2 抗体, C：網膜色素上皮+リコンビナント TSP-1.

TGF-β2：形質転換増殖因子 β2, ND：not detected.

NS：有意差なし, *：p<0.05, ***：p<0.001.

(文献 86, Figure 2 から許可を得て転載, 改変)



潜伏型 TGF-β が網膜色素上皮の TSP-1 により活性型の可溶性 TGF-β となり分泌され、活性化 T リンパ球上の TGF-β 受容体と反応する。TGF-β シグナルが TGF-β 受容体を介して CD4⁺T リンパ球に入ると抑制シグナルが CD4⁺T リンパ球に生じてその増殖は抑制される。

TSP-1：thrombospondin-1, TGF-β：形質転換増殖因子 β, TGF-βR：TGF-β 受容体。

図 21 網膜色素上皮における T リンパ球の抑制分子機構。

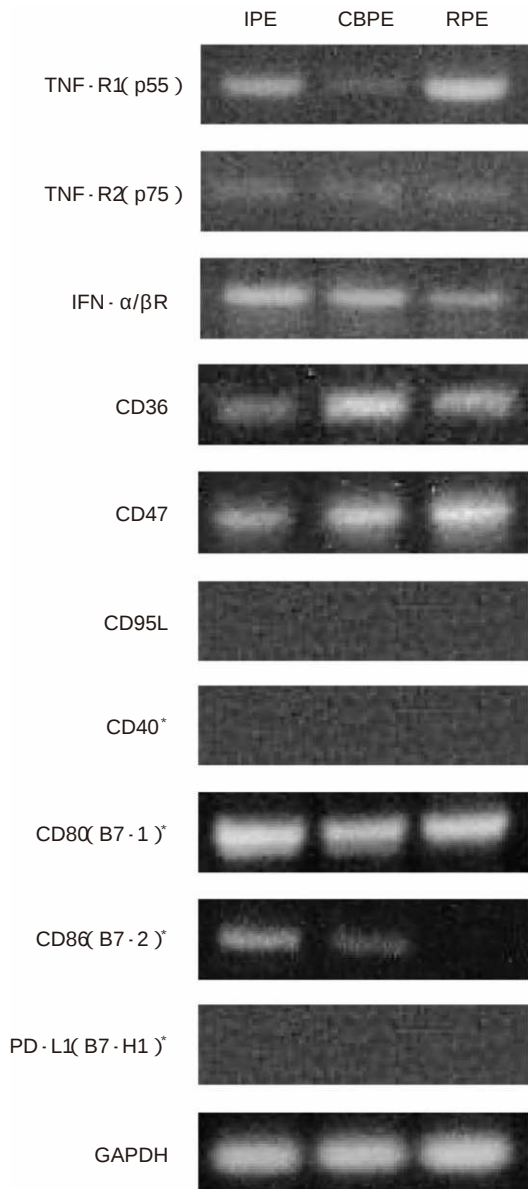


図 22 眼色素上皮における各種抑制因子の遺伝子発現。眼色素上皮細胞表面の種々の抑制因子の遺伝子発現を reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) で測定した。

CD86 (B7-2) は虹彩色素上皮に強く発現し、毛様体色素上皮では弱く、網膜色素上皮では発現がなかった。このような細胞表面分子は他になかった。

IPE: 虹彩色素上皮, CBPE: 毛様体色素上皮, PRE: 網膜色素上皮, TNF-R: 腫瘍壊死因子受容体, IFN- α/β R: インターフェロン α/β 受容体, CD95L: CD95 ligand, PD-L1: programmed death-ligand 1.

(文献 81, Figure 2 から許可を得て転載, 改変)

(ii) CTLA-4

CTLA-4 が活性化 CD4⁺T リンパ球の細胞表面に発現されているかを免疫染色法により検討すると, CTLA-4 は虹彩色素上皮と接触している活性化 CD4⁺T リンパ球の細胞表面に強く発現されていた⁸²⁾(図 24)。また, CTLA-4 KO マウスから採取した T リンパ球は, 野生型

マウス由来の T リンパ球と異なり虹彩色素上皮で抑制されない⁸¹⁾(図 25)。すなわち, 虹彩色素上皮が活性化 CD4⁺T リンパ球を抑制するためには T リンパ球表面に CTLA-4 が発現していることも必要である。しかし, B7-2 と CTLA-4 は虹彩色素上皮と活性化 CD4⁺T リンパ球とを細胞接触させる機能をもつ分子ではあるが, 実際の免疫抑制機能分子ではない。虹彩色素上皮の免疫抑制作用の機能分子は, 網膜色素上皮と同様に TGF- β が担っている。これは以下の実験から明らかである。

(iii) 虹彩色素上皮の免疫抑制機能分子としての TGF- β

培養虹彩色素上皮において TGF- β が発現しているかを免疫染色法で検討すると, 虹彩色素上皮細胞表面には TGF- β が強く発現されている⁸³⁾(図 26)。また, その機能を検討する目的で, TGF- β シグナルが T 細胞に入っていない dominant negative TGF- β 受容体マウス (DN TGF- β R マウス) を用いて実験した。虹彩色素上皮は野生型マウス由来の活性化 CD4⁺T リンパ球のサイトカイン産生を強く抑制したのに対して, DN TGF- β R マウス由来の T リンパ球をまったく抑制しなかった⁸³⁾(図 27)。このことから, 虹彩色素上皮細胞表面に発現している TGF- β のシグナルが活性化 CD4⁺T リンパ球に入ることが T 細胞抑制に必要であると結論される。

虹彩色素上皮における活性化 CD4⁺T リンパ球の抑制分子機構を図に示す(図 28)。TGF- β の免疫抑制機能分子としての働きは虹彩色素上皮でも網膜色素上皮と同じであり, また TSP-1 分子により潜伏型から活性型の TGF- β に変換される点も同じであるが, 大きな相違点は網膜色素上皮で働く TGF- β は可溶性 TGF- β であるのに対して, 虹彩色素上皮では膜結合型 TGF- β である。

3. マウス眼色素上皮細胞による制御性 T 細胞(regulatory T cell)の誘導

今まで述べてきた研究により, 眼の色素上皮細胞は活性化 CD4⁺T リンパ球を直接抑制する作用があること, しかも, 色素上皮細胞が位置する眼内の微小環境に応じて, 網膜では可溶性因子を用いて, 虹彩では細胞接触を介して T リンパ球を抑制する巧妙な分子機構が存在することが明らかとなった。しかし, 眼にはさらに巧妙な免疫抑制機構が存在する。それは, これらの眼色素上皮細胞が眼内に浸潤してきた活性化 T リンパ球の性質を変化させて他の活性化 T リンパ球を抑制する機能をもつ制御性 T 細胞に変換させることである。

すなわち, 眼色素上皮細胞は活性化 T リンパ球を直接抑制するだけでなく, 制御性 T 細胞を誘導し免疫抑制を増幅させて, 眼内の恒常性を維持する驚くべき機構をもっているといえる。これらのことは以下の実験により確認された。

1) 制御性 T 細胞誘導の実験系(図 29)

マウスから採取した CD4⁺T リンパ球あるいは CD8⁺

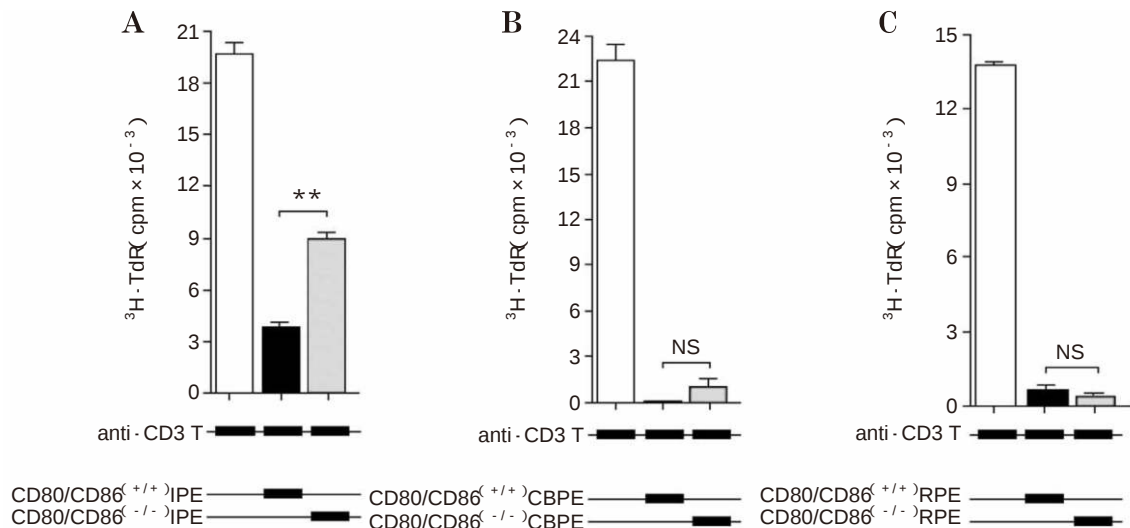


図 23 B 7-2 ノックアウトマウス由来の眼色素上皮による T 細胞抑制。

野生型由来の眼色素上皮は活性化 T リンパ球を強く抑制する。B 7-2 ノックアウトマウス由来の毛様体色素上皮と網膜色素上皮の T リンパ球抑制作用は変化ないが、虹彩色素上皮の T リンパ球抑制作用は失活する。

A：虹彩色素上皮，B：毛様体色素上皮，C：網膜色素上皮。

CD80/CD86^(+/+)：野生型マウス，CD80/CD86^(-/-)：B 7-2 ノックアウトマウス，IPE：虹彩色素上皮，CBPE：毛様体色素上皮，RPE：網膜色素上皮。³H-TdR：サイミジン取り込み，cpm：count per minutes，anti-CD3 T：抗 CD3 抗体で活性化された T リンパ球。

NS：有意差なし，**：p<0.005。

(文献 81, Figure 6 から許可を得て転載，改変)

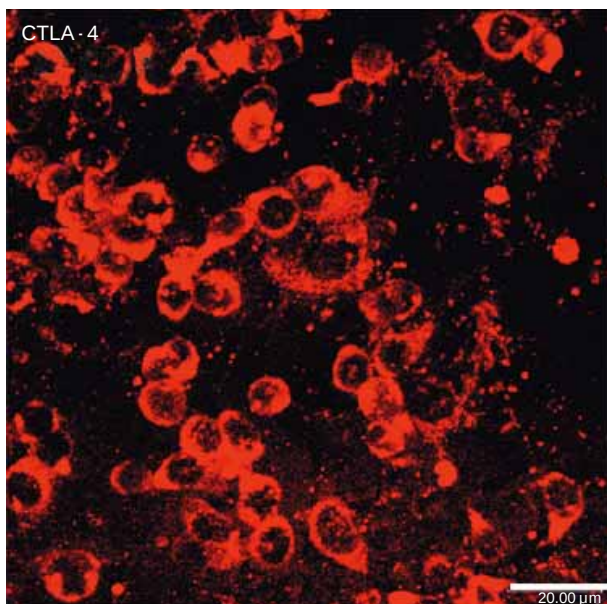


図 24 T リンパ球細胞表面の CTLA-4 発現。

虹彩色素上皮と接触している活性化 T リンパ球は細胞表面に CTLA-4 を強く発現している(フルオレセイン蛍光顕微鏡)。

CTLA-4：cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4。
バー：20 μm。

(文献 82, Figure 7 から許可を得て転載，改変)

T リンパ球を低濃度の抗 CD3 抗体(0.01 μg/ml)存在下で 3 種類の眼色素上皮細胞と共培養し，その後に T リンパ球だけを回収し放射線照射する。この放射線処理により T リンパ球は細胞増殖の機能は失うが，他の生物活性は残っている状態になる。マウスから採取した CD4⁺ T リンパ球(レスポンドー T 細胞)と高濃度の抗 CD3 抗体(1 μg/ml)の培養系に，先ほどの眼色素上皮細胞に曝露し放射線照射した T リンパ球を加えて共培養し，この T リンパ球がレスポンドー T 細胞の増殖反応に与える作用を調べる。もし，この実験系においてレスポンドー T 細胞の増殖が色素上皮細胞に曝露処理された T リンパ球により抑制されれば，色素上皮細胞が制御性 T 細胞を誘導したことになる。実際の実験結果を以下に示す。

2) 眼色素上皮により誘導される制御性 T 細胞のサブタイプ

眼色素上皮はどのような T リンパ球を制御性 T 細胞へと誘導するのであろうか？ 虹彩色素上皮と網膜色素上皮は同じ T リンパ球を制御性 T 細胞に変化させるのであろうか？ この疑問について，前述の実験系を用いて検討した。その結果を図 30 にまとめる。虹彩色素上皮に曝露された CD8⁺ T リンパ球はレスポンドー T 細胞増殖を強く抑制したが，虹彩色素上皮に曝露された CD4⁺ T リンパ球のレスポンドー T 細胞抑制作用は弱かった⁹⁰⁾(図 30)。一方，網膜色素上皮に曝露された

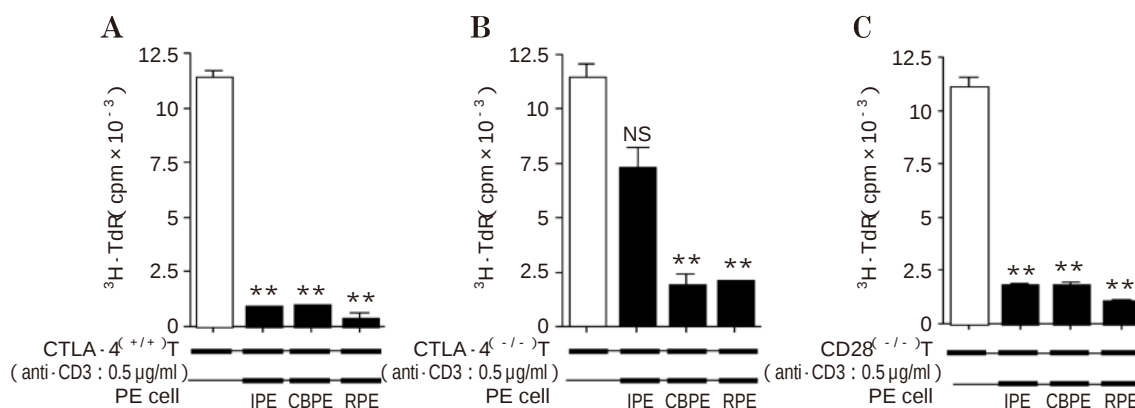


図 25 眼色素上皮の CTLA-4 ノックアウトマウス由来 T リンパ球に対する抑制作用。

野生型マウス由来の活性化 T リンパ球はすべての眼色素上皮で強く抑制されるが、CTLA-4 ノックアウトマウス由来の T リンパ球は虹彩色素上皮で抑制されない。

A: 野生型マウス, B: CTLA-4 ノックアウトマウス, C: CD28 ノックアウトマウス。

CTLA-4^(+/+)T: 野生型マウス由来 T リンパ球, CTLA-4^(-/-)T: CTLA-4 ノックアウトマウス由来 T リンパ球, CD28^(-/-)T: CD28 ノックアウトマウス由来 T リンパ球, PE: 眼色素上皮, IPE: 虹彩色素上皮, CBPE: 毛様体色素上皮, RPE: 網膜色素上皮。

NS: 有意差なし, **: p<0.005.

(文献 81, Figure 8 から許可を得て転載, 改変)

CD4⁺T リンパ球はレスポンダー T 細胞の増殖を非常に強く抑制したが、網膜色素上皮に曝露された CD8⁺T リンパ球のレスポンダー T 細胞抑制作用は弱かった。すなわち、虹彩色素上皮は主に CD8⁺T 細胞を制御性 T 細胞へと誘導し、網膜色素上皮は主に CD4⁺T 細胞を制御性 T 細胞へと誘導することが分かった。一方、毛様体色素上皮には制御性 T 細胞を誘導する機能はなかった。何故、このように前眼部と後眼部とで異なる T リンパ球を制御性 T 細胞に変化させるのか？ その生物学的意義は不明であり、今後の研究課題の一つである。

3) 眼色素上皮細胞により誘導される制御性 T 細胞のプロファイル

末梢血中に存在している制御性 T 細胞は、CD25 陽性で Foxp 3 遺伝子を発現し、活性化 T 細胞抑制をはじめ多くの免疫応答を抑制する機能を有することが知られている¹⁴³⁾¹⁴⁴⁾。ところで、網膜色素上皮細胞により誘導された制御性 T 細胞はどうであろうか？ そのプロファイルを解析した結果を表に示す(表 2)。CD4⁺CD25⁺Foxp 3⁺で可溶性 TGF-β を産生分泌し、TGF-β 受容体を発現し、TSP-1 分子を発現している T 細胞であった⁹⁰⁾。一方、虹彩色素上皮細胞により誘導された制御性 T 細胞は、CD8⁺CD25⁺Foxp 3⁺で、膜結合型 TGF-β, TGF-β 受容体、TSP-1 を細胞表面に発現する細胞であった¹⁴⁵⁾。

4) 網膜色素上皮の制御性 T 細胞誘導に関与する分子

網膜色素上皮の制御性 T 細胞誘導にかかわる特異な可溶性因子が存在するかどうかを知るために、我々はマウスの虹彩色素上皮、毛様体色素上皮、網膜色素上皮の培養細胞を用いて GeneChip[®]解析を行い、遺伝子発現

を網羅的に調べて比較検討した⁹⁰⁾。このマイクロアレーは 45,102 遺伝子を含んでおり、その中で網膜色素上皮は 12,384 個、毛様体色素上皮は 13,993 個、虹彩色素上皮は 15,073 個の遺伝子が有意な発現レベルであった。これらの中で、それぞれの色素上皮細胞に高く発現されている遺伝子を抽出し、特に、網膜色素上皮細胞における発現が他の 2 種類の色素上皮細胞と比べて signal log ratio で 5.0 以上強いものは cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 2α(CTLA-2α)だけであった。CTLA-2α の機能については未だ不明の点が多いが、cathepsin L あるいは cysteine protease を抑制する新しい分子として注目され、免疫反応系における作用も報告されている。CTLA-2α は網膜色素上皮で mRNA レベルの発現が強く検出されたが、虹彩色素上皮と毛様体色素上皮では発現していなかった⁹⁰⁾(図 31)。また、その蛋白質発現も免疫組織染色で網膜色素上皮の細胞表面に斑状顆粒状に確認されたが、虹彩色素上皮では染色されない。この網膜色素上皮細胞で産生される CTLA-2α の機能を知るために、マウス・リコンビナント CTLA-2α(rCTLA-2α)を用いて実験した。すなわち、CD4⁺T リンパ球を低濃度(0.01~0.1 µg/ml)の CD3 抗体存在下で rCTLA-2α と前処置して作製した CTLA-2α 処置 T リンパ球が、CD4⁺のレスポンダー T 細胞の増殖を抑制するかを調べた。rCTLA-2α 処置 T リンパ球は前処置に用いる rCTLA-2α の濃度に依存してレスポンダー T 細胞の増殖反応を抑制した⁹⁰⁾(図 32)。この rCTLA-2α 処置 T リンパ球の中でも CD25⁺細胞は Foxp 3 遺伝子を強く発現しているが、CD25⁻T 細胞は Foxp 3 遺伝子の発現はなかった。Foxp 3 遺伝子は制御性 T 細胞の唯一のマ

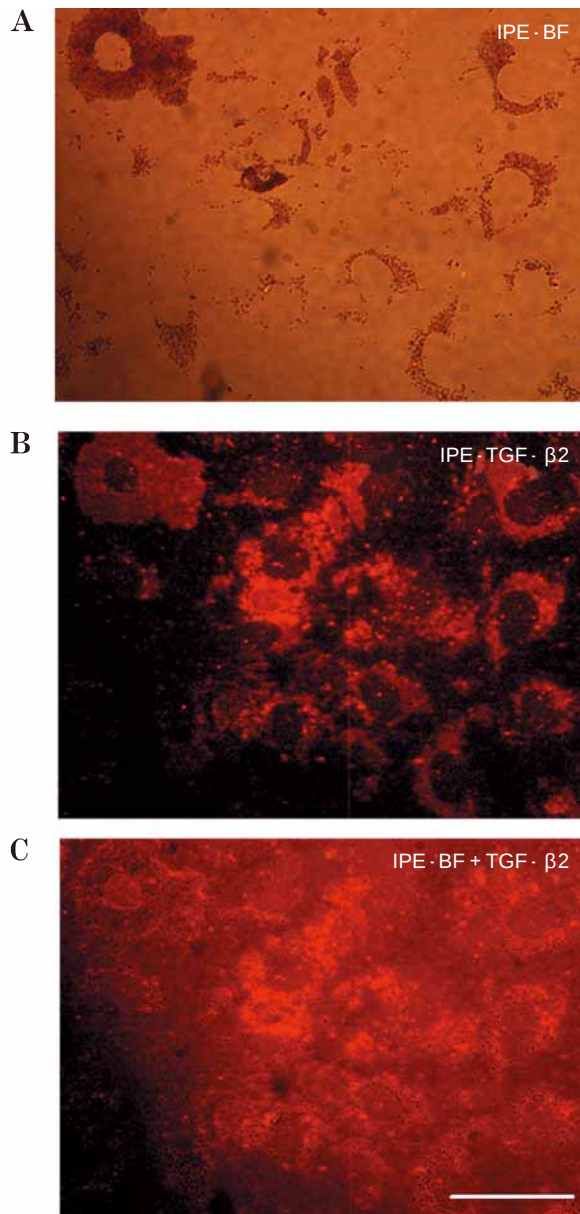


図 26 虹彩色素上皮における TGF- β 2 の発現。

- A：虹彩色素上皮の光学顕微鏡写真。メラニン色素をもつ虹彩色素上皮が観察される。
- B：虹彩色素上皮の TGF- β 2 フルオレセイン蛍光顕微鏡写真。細胞表面に TGF- β 2 (赤) をもつ細胞が観察される。
- C：光学顕微鏡とフルオレセイン蛍光顕微鏡の重ね合わせ (TGF- β は虹彩色素上皮絵上に染色)。A と B を重ね合わせると TGF- β 2 は虹彩色素上皮に発現していることが分かる。

IPE：虹彩色素上皮，BF：bright field image，

TGF- β 2：形質転換増殖因子 β 2。バー：50 μ m。

(文献 83, Figure 3 から許可を得て転載，改変)

カーであることから，CTLA-2 α は活性化 CD4⁺T リンパ球を制御性 T 細胞へと誘導する機能があると結論される。CTLA-2 α を small interfering RNA (siRNA) でブロックすることで CTLA-2 α の機能をさらに解析した⁹⁰⁾。網膜色素上皮に曝露した T リンパ球は制御性 T

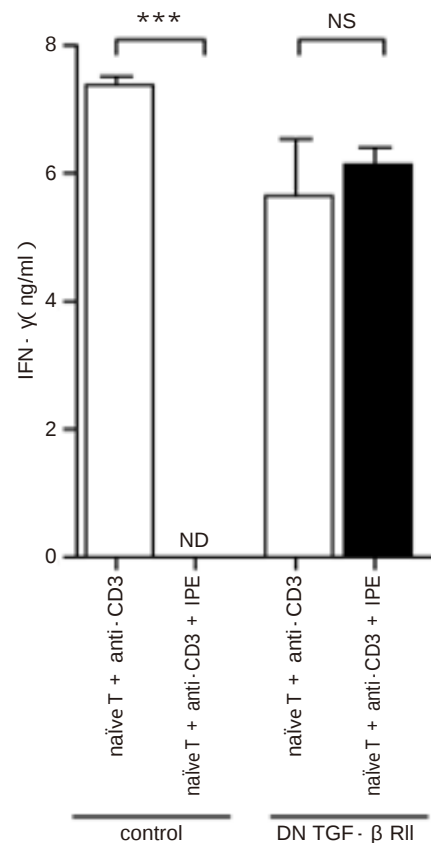


図 27 TGF- β シグナルと虹彩色素上皮の T リンパ球抑制作用。

野生型マウス由来 T リンパ球のインターフェロン γ は虹彩色素上皮で強く抑制される。しかし，DN TGF- β RII マウス由来の T リンパ球は虹彩色素上皮で抑制されない。

DN TGF- β RII：dominant negative TGF- β 受容体マウス (TGF- β のシグナルが T リンパ球に入らない遺伝子改変マウス)，IFN- γ ：インターフェロン γ ，T：T リンパ球，IPE：虹彩色素上皮。

ND：not detected，NS：有意差なし，***：p<0.001。

(文献 83, Figure 6 から許可を得て転載，改変)

細胞へと誘導されレスポンド T 細胞の増殖を強く抑制するが，CTLA-2 α の siRNA を遺伝子導入した網膜色素上皮細胞に曝露された T リンパ球はレスポンド T 細胞の増殖反応を抑制できず (図 33)，このことから CTLA-2 α は網膜色素上皮細胞の制御性 T 細胞誘導に不可欠な因子であるといえる。

以上の研究結果から網膜色素上皮細胞による制御性 T 細胞誘導の分子機構は図 34 の如くと考える。すなわち，網膜色素上皮細胞表面の TSP-1 分子により潜伏型 TGF- β が活性型の可溶性 TGF- β となり分泌され，CD4⁺T 細胞表面の TGF- β 受容体と結合する。同時に，網膜色素上皮細胞から CTLA-2 α が産生・分泌され，可溶性 CTLA-2 α が CD4⁺T リンパ球に反応すると T リンパ球に抑制シグナルが入り，CD4⁺T リンパ球は Foxp 3 遺伝子を発現して制御性 T 細胞へと変化する。この制

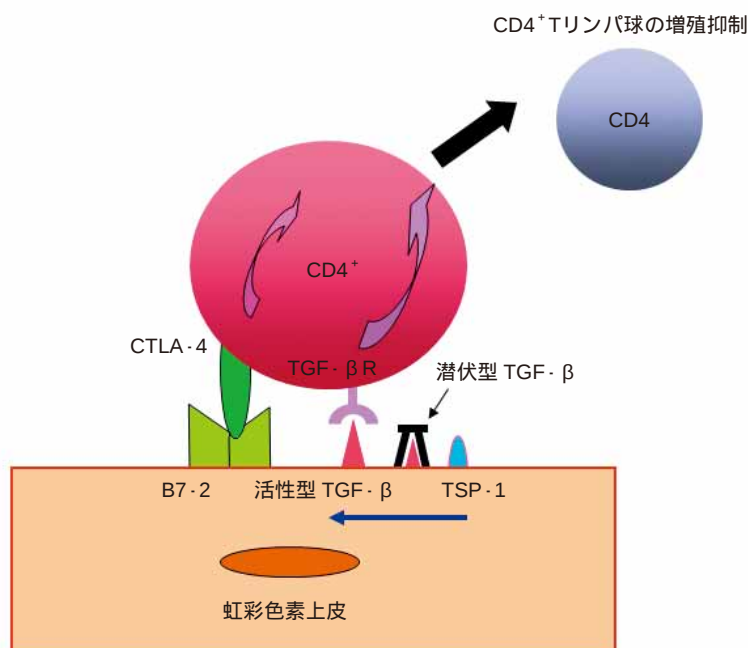


図 28 虹彩色素上皮の T リンパ球抑制分子機構.

虹彩色素上皮の TSP-1 により潜伏型 TGF- β から活性型に変化した TGF- β が CD4⁺ T リンパ球表面の受容体に結合して CD4⁺ T リンパ球を抑制する.

TSP-1: thrombospondin-1, TGF- β : 形質転換増殖因子 β , TGF- β R: TGF- β 受容体, CTLA-4: cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4.

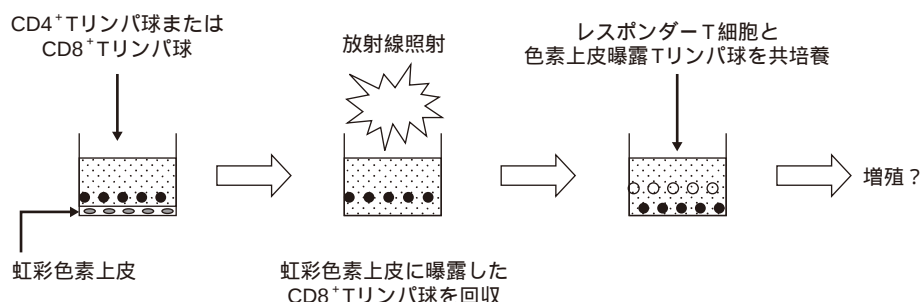


図 29 制御性 T 細胞の誘導実験方法.

マウスから採取した CD4⁺ T リンパ球あるいは CD8⁺ T リンパ球を抗 CD3 抗体 (0.01 μ g/ml) 存在下で眼色素上皮細胞と共培養し, T リンパ球を回収し放射線照射する. マウスから採取したレスポナー T 細胞 (CD4⁺ T リンパ球) と抗 CD3 抗体 (1 μ g/ml) の培養系に, 眼色素上皮細胞曝露 T リンパ球を加えて共培養し, この T リンパ球がレスポナー T 細胞を抑制するかを調べる.

御性 T 細胞はさらに可溶性 TGF- β や他の抑制性サイトカインを産生してレスポナー T 細胞 (活性化 CD4⁺ T リンパ球) を抑制する.

このように, 数に限りがある網膜色素上皮細胞は, 自身が直接活性化 T リンパ球を抑制すると同時に, 眼内に侵入して炎症を起こさずの活性化 T リンパ球を制御性 T 細胞に変化させて免疫抑制反応を増強させる巧妙な機構を有している.

5) 虹彩色素上皮による制御性 T 細胞の誘導

虹彩色素上皮細胞も同様に活性化 T リンパ球を制御性 T 細胞に変換して免疫抑制を増幅する機能がある. しかし, 虹彩色素上皮は網膜色素上皮と異なり, CD8⁺

T リンパ球を制御性 T 細胞に誘導する⁹⁰⁾¹⁴⁵⁾ (図 35). 虹彩色素上皮表面の B7-2 と CD8⁺ T リンパ球表面の CTLA-4 分子により二つの細胞が直接接触し, T リンパ球上の TSP-1 が潜伏型 TGF- β を膜結合型の活性化 TGF- β に変化させ, CD8⁺ T リンパ球表面の TGF- β 受容体に抑制シグナルを送ることで, CD8⁺ T リンパ球が制御性 T 細胞に誘導される.

4. ヒト眼色素上皮細胞による T 細胞抑制作用と制御性 T 細胞の誘導

これまではマウスの眼色素上皮細胞の実験結果を中心に眼の局所防御機構について述べてきたが, ヒトにおいてはどうか?

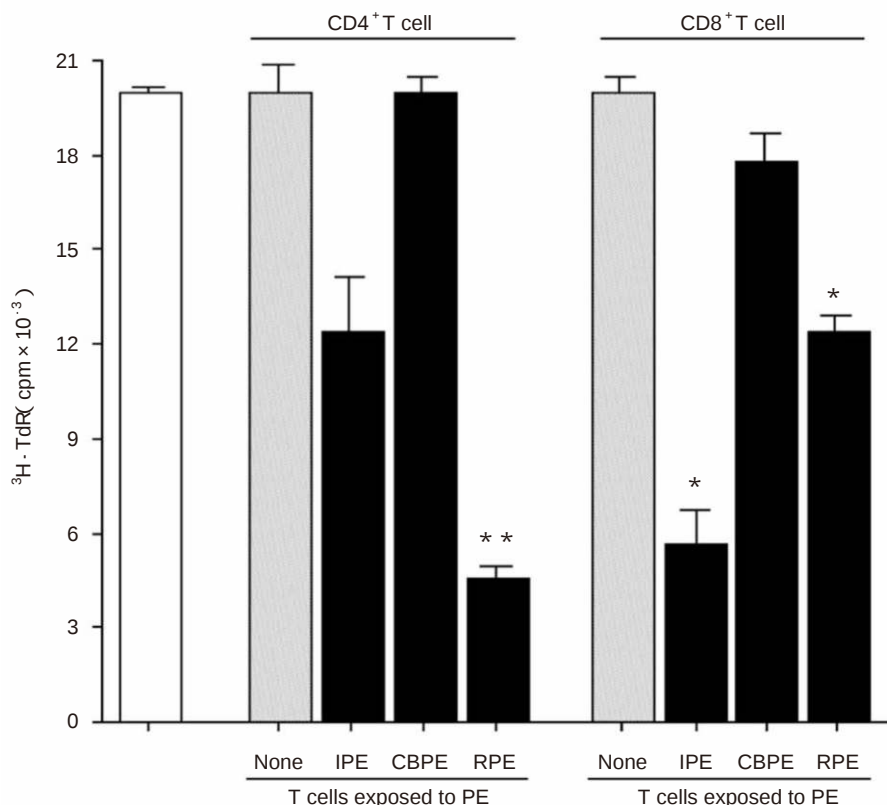


図 30 眼色素上皮による制御性 T 細胞の誘導.

眼色素上皮が CD4⁺T リンパ球と CD8⁺T リンパ球のどちらを制御性 T 細胞にするかを調べた。虹彩色素上皮は CD8⁺T リンパ球を、網膜色素上皮は CD4⁺T リンパ球を制御性 T 細胞へ誘導する。

□: レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体, ▨: 眼色素上皮に曝露させない対照 T 細胞 + レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体, ■: 眼色素上皮に曝露させた制御性 T 細胞 + レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体。

IPE: 虹彩色素上皮, CBPE: 毛様体色素上皮, RPE: 網膜色素上皮, ³H-TdR: サイミジン取り込み, cpm: count per minutes, PE: 眼色素上皮。

*: p<0.05, **: p<0.005.

(文献 90, Figure 1 から許可を得て転載, 改変)

表 2 制御性 T 細胞のプロファイル

RPE Treg ¹⁾	IPE Treg ²⁾
CD4 ⁺	CD8 ⁺
CD25 ⁺	CD25 ⁺
Foxp 3 ⁺	Foxp 3 ⁺
可溶性 TGF-β	膜結合型 TGF-β
TGF-β 受容体	TGF-β 受容体
TSP-1	TSP-1

¹⁾RPE Treg: 網膜色素上皮により誘導された制御性 T 細胞。

²⁾IPE Treg: 虹彩色素上皮により誘導された制御性 T 細胞。

正常眼圧緑内障の緑内障手術時に採取した虹彩から虹彩色素上皮細胞を分離培養した。このヒト虹彩色素上皮細胞は, allogeneic または autogeneic な T リンパ球の増殖反応を抑制し, また, ぶどう膜炎患者の眼局所の浸潤細胞から樹立した CD4⁺T 細胞クローンの増殖反応も強く抑制した。これらの抑制反応は, 虹彩色素上皮と T 細胞の間に cell insert 膜を置くと消失した(未発表データ)。これらのことはマウスの虹彩色素上皮で得ら

れた結果とまったく同じであることから, ヒトにおいてもマウスと同様な制御機構とその分子機構が存在し機能していると考えられる。

ヒトの網膜色素上皮細胞もマウスの網膜色素上皮細胞と同様に, 抗 CD3 抗体の存在下で共培養した CD4⁺T リンパ球を制御性 T 細胞に誘導した。しかし, ヒトの場合は効率よく制御性 T 細胞を誘導するには TGF-β の刺激が必要で, このようにしてヒト網膜色素上皮細胞により誘導したヒトの制御性 T 細胞は, ぶどう膜炎患者(原田病, サルコイドーシス, 急性網膜壊死)から樹立した T 細胞クローンの増殖反応を抑制した(未発表データ)(図 36)。

5. 眼色素上皮による活性化 T リンパ球抑制の生物学的意義

眼の色素上皮細胞にこれまで明らかにされたような免疫抑制作用があることの生物学的な意義について触れたい。血液眼関門が破綻して眼内に活性化 T リンパ球が浸潤すると眼内に炎症を生じることになる。これを防ぐ

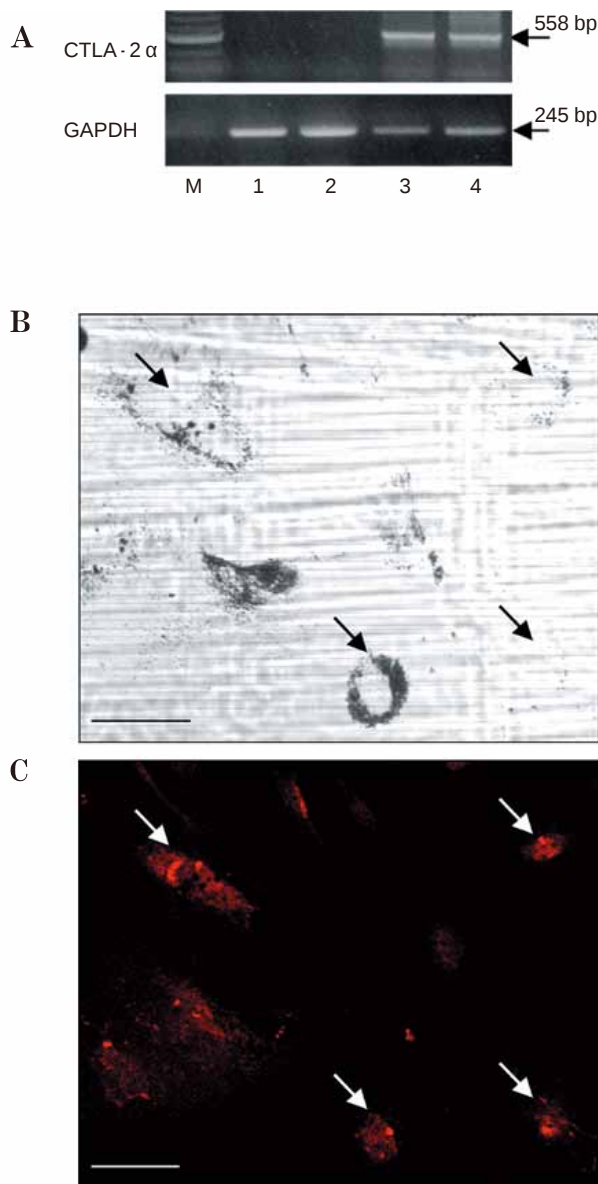


図 31 cytotoxic T lymphocyte-associated 2α(CTLA-2α)の眼色素上皮における発現。

A : CTLA-2α は網膜色素上皮と網膜色素上皮細胞株だけに強く発現しているが、他の眼色素上皮には発現しなかった。

1 : 虹彩色素上皮, 2 : 毛様体色素上皮, 3 : 網膜色素上皮, 4 : 網膜色素上皮細胞株, M : 分子量マーカー。

B : 虹彩色素上皮の光学顕微鏡写真(黒矢印: 虹彩色素上皮)。

C : B と同じ視野の虹彩色素上皮のフルオレセイン蛍光顕微鏡写真(白矢印: 虹彩色素上皮, 赤: CTLA-2α)。

バー : 20 μm。

(文献 90, Figure 4 から許可を得て転載, 改変)

手段として血液眼関門の入り口に位置する虹彩色素上皮, 毛様体色素上皮, 網膜色素上皮が眼内に侵入しようとするこれらの T リンパ球を捕らえて不活性化すれば, いったん眼内に侵入した後で T リンパ球を捕えるより

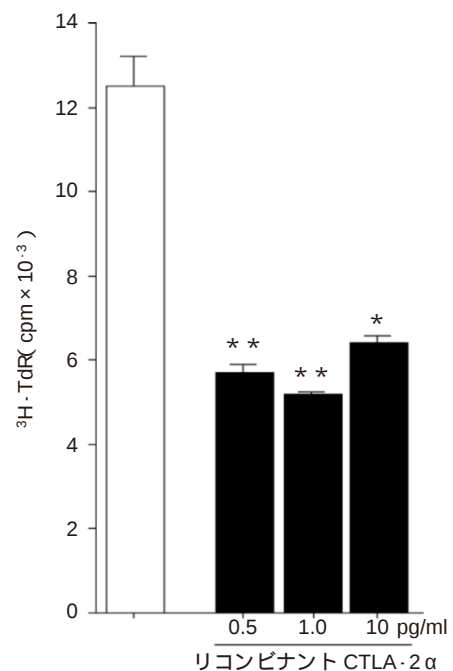


図 32 リコンビナント CTLA-2α による制御性 T 細胞の誘導。

□ : レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体, ■ : レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体 + リコンビナント CTLA-2α 前処理した T 細胞, ³H-TdR : サイミジン取り込み, cpm : count per minutes, CTLA-2α : cytotoxic T lymphocyte-associated 2α。

* : p < 0.05, ** : p < 0.005。

(文献 90, Figure 5 から許可を得て転載, 改変)

もはるかに効率的であると考えられる。まさにそのような免疫機構が眼の 3 種類の色素上皮に存在することが明らかになったといえる。さらに、各々の色素上皮の位置する解剖学的環境に順応した免疫機構が発達している。すなわち、房水に囲まれた前眼部の虹彩色素上皮は細胞接触を介して T リンパ球を抑制する分子機構が存在し、液体が少なく細胞が高密度にある後眼部の網膜色素上皮は可溶性因子を介して免疫抑制を行う分子機構が存在する。しかし、無数に浸潤してくる活性化 T リンパ球を数に限りのある虹彩色素上皮や網膜色素上皮だけで処理しようとしても限界があると考えられる。このような状況に対しても眼は対応できる驚くべき機構をもっている。それが、眼色素上皮による制御性 T 細胞の誘導である。すなわち、眼色素上皮細胞は眼内に侵入してきた活性化 T リンパ球を利用して、これらの細胞を他の活性化 T リンパ球を抑制する能力をもつ制御性 T 細胞に変えて眼内局所の免疫防御の効率を上げているのである。その分子機構の詳細を本稿で述べてきたが、その生物学的意義として強調したいことは、実にさまざまな機能分子と遺伝子が相互に関与しながら厳格で効率的な制御機構を形成し、視機能に必要な細胞を無差別に傷害することなく必要な標的だけを抑制している。

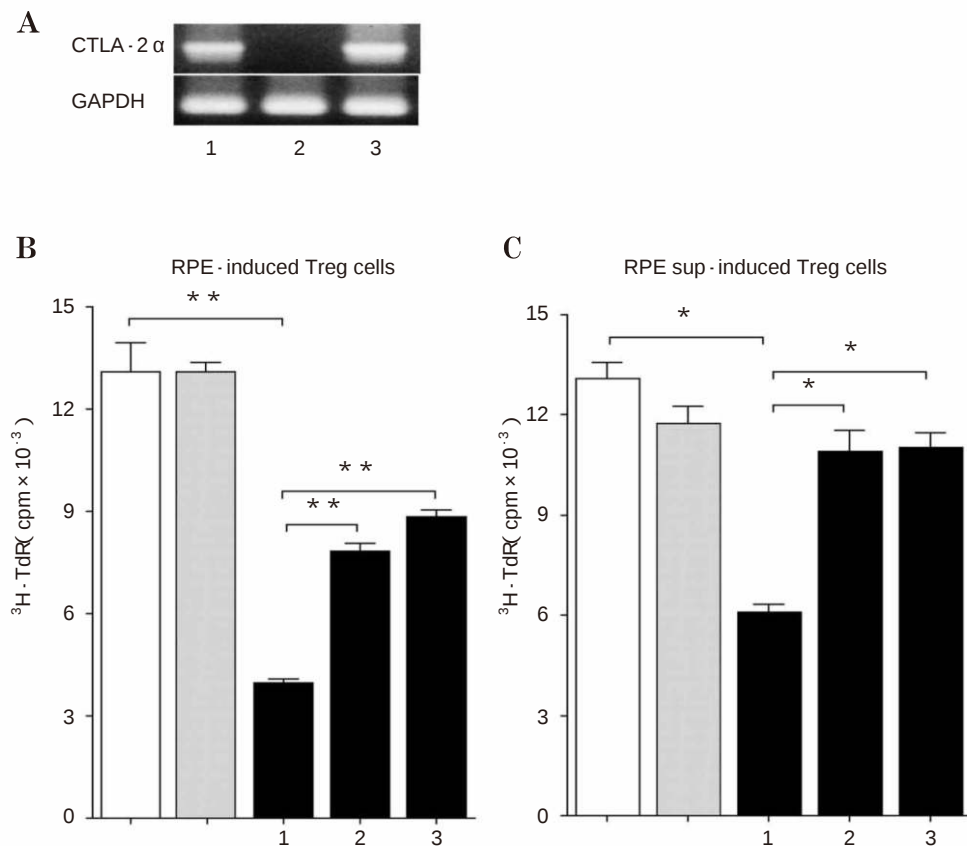


図 33 small interfering RNA (siRNA) CTLA-2 α による制御性 T 細胞の中和。

A : siRNA を導入した網膜色素上皮では CTLA-2 α の発現が抑制された。

1 : 網膜色素上皮の primary culture 細胞, 2 : siRNA を遺伝子導入した網膜色素上皮細胞,

3 : 抗 CD3 抗体で処置した T リンパ球(対照)。

B : 網膜色素上皮で誘導した制御性 T 細胞と siRNA の作用。

□ : レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体, ■ : レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体 + 無処理 T 細胞,

■ : 1. レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体 + 網膜色素上皮誘導制御性 T 細胞, 2. レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体 + 網膜色素上皮誘導制御性 T 細胞 (siRNA 1 nM), 3. レスポンダー T 細胞 + 抗 CD3 抗体 + 網膜色素上皮誘導制御性 T 細胞 (siRNA 10 nM)。

C : 網膜色素上皮の培養上清で誘導した制御性 T 細胞誘導と siRNA の作用。

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.005$ 。

(文献 90, Figure 5 から許可を得て転載, 改変)

6. 今後の展望

このような眼局所の防御機構で働く機能分子と細胞は、ぶどう膜炎の治療に応用できる可能性を秘めている。網膜色素上皮細胞から産生・分泌される CTLA-2 α , あるいは強力な免疫抑制作用がある TGF- β なども候補である。制御性 T 細胞を用いた細胞治療が近い将来にぶどう膜炎の治療に応用されることが期待される。これには、ぶどう膜炎患者から末梢血を採取し T リンパ球を分離してヒトの網膜色素上皮細胞とヒトリコンビナント TGF- β と共培養し高純度制御性 T 細胞を作製する。この高純度制御性 T 細胞を同じ患者の末梢血, あるいは炎症のある眼内に戻すという方法である。

まだ多くの解決すべき課題が残っているが、本稿で述べた研究が難治性ぶどう膜炎の治療に役立つことを期待する。

V 結 語

過去三十数年間にわたりぶどう膜炎の臨床と研究に携わり、眼内炎症の発症機構とそれを制御する眼内の局所免疫機構に強い関心を抱き続けた。1981 年に日本学術振興会の奨学生として留学の機会を得て米国 National Eye Institute でインターロイキン-1 の発見者である Igal Gery 先生に師事し、網膜自己抗原の発見者で実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (EAU) を確立した Waldon Wacker 先生に S 抗原精製方法の指導を直接受けたことが、私の眼免疫研究のはじまりといえる。丁度、眼内炎症の研究が大きく飛躍しようとした時期にその分野に入り、EAU とヒトのぶどう膜炎の発症機序解明と治療法の開発の研究のめざましい進歩を見聞き体験できたことは非常に幸運であったと考える。

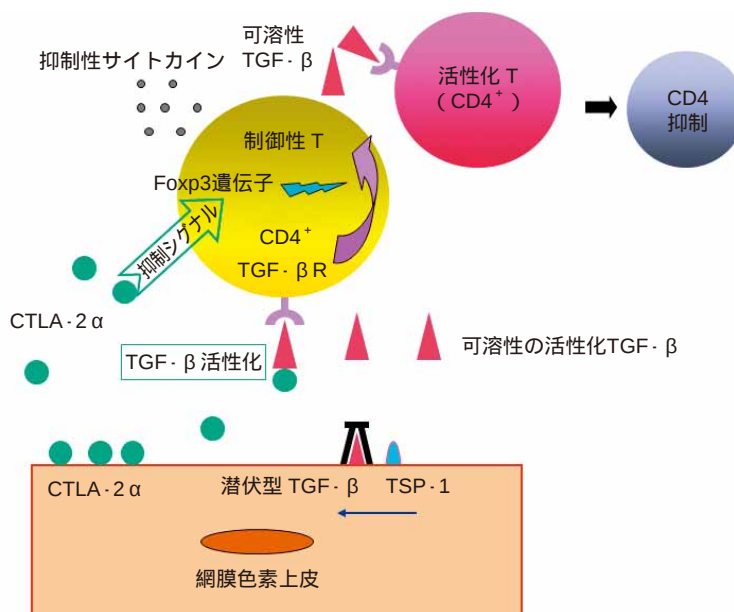


図 34 網膜色素上皮による制御性 T 細胞誘導の分子機構。

網膜色素上皮細胞の TSP-1 刺激により潜伏型 TGF- β は活性型の可溶性 TGF- β となり分泌され、 $CD4^+$ T リンパ球表面の TGF- β 受容体と結合する。CTLA-2 α も網膜色素上皮から分泌され $CD4^+$ T リンパ球に抑制シグナルが入れる。これらの刺激により、 $CD4^+$ T リンパ球は Foxp 3 遺伝子を発現して制御性 T 細胞へと変化する。この制御性 T 細胞は、さらに可溶性 TGF- β や他の抑制性サイトカインを分泌してレスポナー T 細胞(活性化 $CD4^+$ T リンパ球)を抑制する。

TSP-1 : thrombospondin-1, TGF- β : 形質転換増殖因子 β , TGF- β R : TGF- β 受容体, CTLA-2 α : cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 2 α .

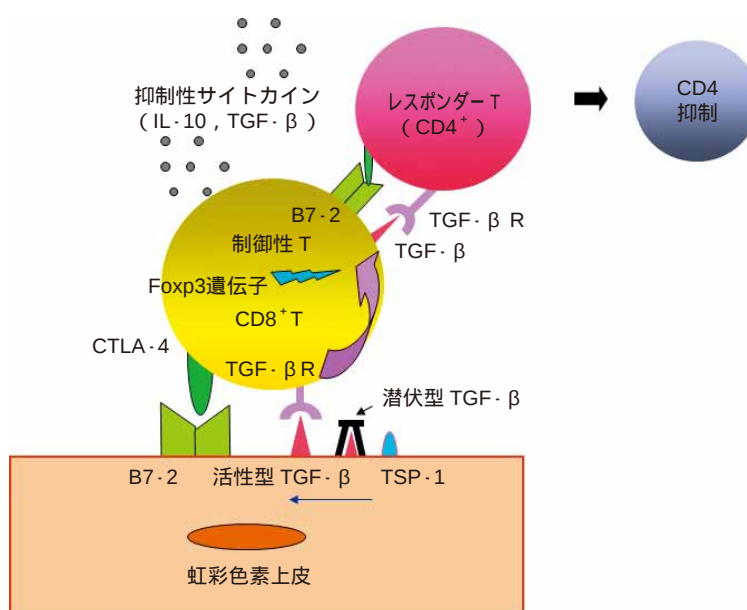


図 35 虹彩色素上皮による制御性 T 細胞誘導の分子機構。

虹彩色素上皮表面の B 7-2 と $CD8^+$ T リンパ球表面の CTLA-4 分子が結合することで虹彩色素上皮と T リンパ球が細胞接触する。そして、T リンパ球の TSP-1 が潜伏型 TGF- β を膜結合型の活性化 TGF- β に変化させ、 $CD8^+$ T リンパ球表面の TGF- β 受容体に抑制シグナルを送ることで、 $CD8^+$ T リンパ球に Foxp 3 遺伝子が発現し制御性 T 細胞へと誘導される。

TSP-1 : thrombospondin-1, TGF- β : 形質転換増殖因子 β , TGF- β R : TGF- β 受容体, CTLA-4 : cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4.

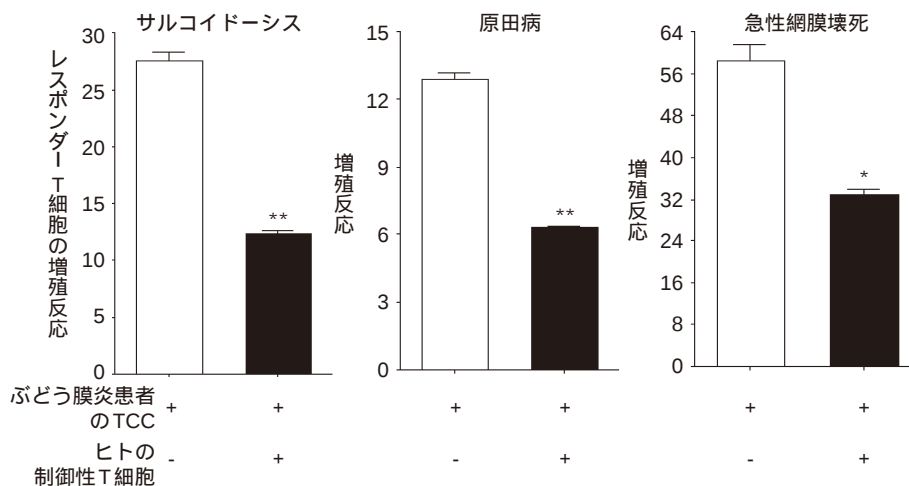


図 36 ヒト網膜色素上皮により誘導されたヒト制御性 T 細胞.

ヒトの $CD4^+$ T リンパ球をヒト網膜色素上皮細胞と抗 CD3 抗体と $TGF-\beta$ の存在下で共培養し、X 線照射処置した。このヒト網膜色素上皮細胞に曝露された T リンパ球は Foxp3 遺伝子を発現し、原田病、サルコイドーシス、急性網膜壊死の患者眼局所浸潤細胞から樹立した $CD4^+$ T 細胞クローンの増殖反応を抑制した (未発表データ)。

TCC: T 細胞クローン。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.005$.

EAU モデルで行った発症機構の解析で、T リンパ球、特に活性化 $CD4^+$ T リンパ球の重要性が明らかになり、T リンパ球を選択的に抑制するシクロスポリンをはじめとする種々の免疫抑制薬の免疫薬理解析がシクロスポリンの臨床応用に結実した。さらに、私の関心は動物モデルの研究で得られた知識と研究方法をヒトのぶどう膜炎の理解に応用することに向けられた。久留米大学に赴任した直後に、宮崎県都城市の宮田典男博士から「宮崎には変な症状のぶどう膜炎患者が大変に多いので調べてほしい」という相談があり、これが HTLV-1 キャリアに生じるぶどう膜炎の臨床像確立と発症機序解明の研究の端緒となった。HTLV-1 ぶどう膜炎は HTLV-1 ウイルスに感染した活性化 $CD4^+$ T リンパ球が眼内に集積し、種々の炎症性サイトカインを産生することにより生じる眼内炎症であることが判明した。この研究の中で、久留米大学免疫学の伊東恭悟教授と佐川公矯教授の指導で確立した眼局所浸潤細胞から T 細胞クローンを樹立する方法は、その後、Vogt-小柳-原田病の局所浸潤細胞の機能解析に応用された。眼局所にメラノサイト関連抗原の tyrosinase とサイトメガロウイルスのエンベロープ糖蛋白質ペプチドに感作された活性化 $CD4^+$ T リンパ球が存在することが判明し、Vogt-小柳-原田病の発症機構に molecular mimicry も関与している可能性が示された。

一方、HTLV-1 ぶどう膜炎の発症機構の研究をしているときに、眼内浸潤細胞から樹立した HTLV-1 感染 T 細胞クローンは種々のサイトカインを産生し、患者末梢血のリンパ球もサイトカインを産生するにもかかわらず、患者から採取したばかりの新鮮な前房水中のリンパ

球はサイトカインを産生しない現象から、眼内の局所免疫機構の存在を実感し、以後は眼の局所免疫防御機構に焦点を当てて研究を行った。従来から、Streilein らが提唱するように眼は免疫学的に特殊な環境をもっているが、我々は眼の色素上皮細胞、特に、虹彩色素上皮と網膜色素上皮が活性化 T リンパ球を抑制する仕組みを解析した。そして、前眼部と後眼部とでは免疫抑制の方法が大きく異なること、房水に囲まれた前眼部(虹彩色素上皮)では細胞接触で、細胞が密に存在する後眼部(網膜色素上皮)では可溶性因子で T リンパ球を抑制すること、これらの眼の色素上皮細胞は自らが直接活性化 $CD4^+$ T リンパ球を抑制するだけではなく、T リンパ球を制御性 T 細胞に変化させてさらに多くの活性化 $CD4^+$ T リンパ球を抑制する制御反応の増幅機構をもっていることを明らかにした。眼内の局所防御は $TGF-\beta$ 、TSP-1、CTLA-2 α 、B7-2 と CTLA-4 などの多くの免疫機能分子と遺伝子の相互作用で担われている。このような巧妙な眼内局所防御機構により、血液眼関門の破綻で眼内に侵入し眼内炎症を起こす活性化 $CD4^+$ T リンパ球は次第に抑制制御される。このような眼内の恒常性維持機構が高度視機能の保持に大きく寄与していると結論される。

第 112 回日本眼科学会総会において特別講演の機会を賜り、日本眼科学会理事長、第 112 回日本眼科学会総会会長の新家 眞先生(東京大学教授)、日本眼科学会の理事、監事、評議員の諸先生方および日本眼科学会会員の先生方に、心から感謝申し上げます。また根木 昭先生(神戸大学教授)には、当日座長の労をお取りいただき深く感謝申し上げます。

東京大学, 久留米大学, 東京医科歯科大学, そして米国 NEI 留学時代を通して, 多くの先生方のご指導とご支援を賜った。特に, 眼科医になった当初から眼科学の研究の楽しさと厳しさを教えてくださった恩師故・三島済一先生(東京大学名誉教授), ぶどう膜炎の臨床と研究の道に導いてくださった増田寛次郎先生(東京大学名誉教授), 眼免疫学を初歩からご指導いただいた NEI の Igal Gery 先生と Robert B Nussenblatt 先生, その機会を与えていただいた Jin H Kinoshita 先生(NEI, Scientific Director), 眼病理の重要性を教えてくださいくださった猪俣 孟先生(九州大学名誉教授)と故・桑原登一郎博士(NEI), HTLV-1 ぶどう膜炎研究のきっかけと研究フィールドを提供いただいた宮田典男先生(宮田眼科理事長), T 細胞クローンの樹立方法をご指導いただいた伊東恭悟先生(久留米大学教授)と佐川公矯先生(久留米大学教授), HTLV-1 ぶどう膜炎で協同研究していただいた渡邊俊樹先生(東京大学医科学研究所教授)と山口一成先生(国立感染症研究所部長)に心からの謝意を捧げたい。

この特別講演の内容のすべては, 東京大学, 久留米大学, 東京医科歯科大学眼科学教室の多くの先生方により行われたものである。特に, 杉田 直講師は久留米大学時代から今日に至るまで私と研究をともにし, 研究を大きく発展させたことに心からの謝意を表したい。また, 正田直文先生をはじめ多くの久留米大学眼科教室の先生方, 東京医科歯科大学の教室員全員, 特にぶどう膜炎専門外来, 眼免疫研究グループ, 網膜・硝子体グループの先生方の協力を心から感謝する。

文 献

- 1) **Elschnig A** : Studien, zur sympathischen ophthalmia. Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol 76 : 509—546, 1910.
- 2) **Woods AC** : Immune reactions following injuries to the uveal tract. J Am Med Assoc 77 : 1317—1322, 1921.
- 3) **Collins RC** : Experimental studies on sympathetic ophthalmia. Am J Ophthalmol 32 : 1687—1699, 1949.
- 4) **Luntz MH** : Anti-uveal and anti-lens antibodies in uveitis and their significance. Exp Eye Res 7 : 561—569, 1968.
- 5) **Wacker WB, Lipton MM** : Experimental allergic uveitis : homologous retina as uveitogenic antigen. Nature 206 : 253—254, 1965.
- 6) **Wacker WB, Donoso LA, Kalsow CM, Yankeelov JA Jr, Organisciak DT** : Experimental allergic uveitis. Isolation, characterization, and localization of a soluble uveitopathogenic antigen from bovine retina. J Immunol 119 : 1949—1958, 1977.
- 7) **De Kozak Y, Usui M, Faure JP** : Experimental autoimmune uveoretinitis. Ultrastructure of chorioretinal lesions induced in guinea pigs by immunization against the outer rods of the bovine retina. Arch Ophthalmol 36 : 231—248, 1976.
- 8) **Faure JP, de Kozak Y, Dorey C, Tuyen VV** : Activite de differentes preparations antigeniques de la retine dans l'induction de l'uveo-retinite autoimmune experimentale chez le cobaye. Arch Ophthalmol 37 : 47—60, 1977.
- 9) **Kalsow CM, Wacker WB** : Pineal gland involvement in retina-induced experimental allergic uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 17 : 774—783, 1978.
- 10) **Rao NA, Wacker WB, Marak GE Jr** : Experimental allergic uveitis. Clinicopathologic features associated with varying doses of S antigen. Arch Ophthalmol 97 : 1954—1958, 1979.
- 11) **Nussenblatt RB, Gery I, Ballantine EJ, Wacker WB** : Cellular immune responsiveness of uveitis patients to retinal S-antigen. Am J Ophthalmol 89 : 173—179, 1980.
- 12) **De Kozak Y, Sakai J, Thillaye B, Faure JP** : S antigen-induced experimental autoimmune uveoretinitis in rats. Curr Eye Res 1 : 327—337, 1981.
- 13) **Nussenblatt RB, Kuwabara T, de Monasterio FM, Wacker WB** : S-antigen uveitis in primates. A new model for human disease. Arch Ophthalmol 99 : 1090—1092, 1981.
- 14) **Nussenblatt RB, Rodrigues M, Wacker WB, Cevario SJ, Salinas-Carmona MC, Gery I** : Cyclosporin A. Inhibition of experimental autoimmune uveitis in Lewis rats. J Clin Invest 67 : 1228—1231, 1981.
- 15) **Salinas-Carmona MC, Nussenblatt RB, Gery I** : Experimental autoimmune uveitis in the athymic nude rat. Eur J Immunol 12 : 481—484, 1982.
- 16) **Nussenblatt RB, Palestine AG, Rook AH, Scher I, Wacker RB, Gery I** : Cyclosporin A therapy of intraocular inflammatory disease. Lancet ii : 235—238, 1983.
- 17) **Mochizuki M, Nussenblatt RB, Gery I** : Effects of cyclosporine (CsA) on the efferent limb of the immune response. Transpl Proc 15 (Suppl. 1) : 2364—2366, 1983.
- 18) **Mochizuki M, Charley J, Kuwabara T, Nussenblatt RB, Gery I** : Involvement of the pineal gland in rats with experimental autoimmune uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 24 : 1333—1338, 1983.
- 19) **Gregerson DS, Abrahams IW** : Immunologic and biochemical properties of several retinal proteins bound by antibodies in sera from animals with experimental autoimmune uveitis and uveitis patients. J Immunol 131 : 259—264, 1983.
- 20) **Gregerson DS, Puttermann GJ** : Preparation, isolation and immunochemical studies of the cyanogen bromide peptides from a retinal photoreceptor cell autoantigen, S-antigen. J Immunol 133 : 843—848, 1984.
- 21) **Mochizuki M, Kuwabara T, Chan CC, Nussenblatt RB, Metcalfe DD, Gery I** : An Association between susceptibility to experimental autoimmune uveitis and choroidal mast cell numbers. J

- Immunol 133 : 1699—1701, 1984.
- 22) **Zigler JS Jr, Mochizuki M, Kuwabara T, Gery I** : Purification of retinal S-antigen to homogeneity by the criterion of gel electrophoresis silver staining. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25 : 977—980, 1984.
 - 23) **Mochizuki M, Kuwabara T, McAllister C, Nussenblatt RB, Gery I** : Adoptive transfer of experimental autoimmune uveoretinitis in rats : immunopathogenic mechanisms and histological features. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26 : 1—9, 1985.
 - 24) **Mochizuki M, Nussenblatt RB, Kuwabara T, Gery I** : Effects of cyclosporine and other immunosuppressive drugs on experimental autoimmune uveoretinitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26 : 226—232, 1985.
 - 25) **Gery I, Mochizuki M, Nussenblatt RB** : Retinal specific antigens and immunopathogenic processes they provoke. *Prog Ret Eye Res* 5 : 75—109, 1986.
 - 26) **Caspi RR, Roberge FG, Chan CC, Wiggert B, Chader GJ, Rozenszajn LA, et al** : A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J Immunol* 140 : 1490—1495, 1988.
 - 27) **Fujino Y, Okumura A, Nussenblatt RB, Gery I, Mochizuki M** : Cyclosporine-induced specific unresponsiveness to retinal soluble antigen in experimental autoimmune uveoretinitis. *Clin Immunol Immunopathol* 46 : 234—248, 1988.
 - 28) **Kawashima H, Fujino Y, Mochizuki M** : Effects of a new immunosuppressive agent, FK506, on experimental autoimmune uveoretinitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29 : 1265—1271, 1988.
 - 29) **Singh VK, Yamaki K, Donoso LA, Shinohara T** : Molecular mimicry. Yeast histone H3-induced experimental autoimmune uveitis. *J Immunol* 142 : 1512—1517, 1989.
 - 30) **Masuda K, Nakajima A, Urayama A, Nakae K, Kogure M, Inaba G** : Double-masked trial of cyclosporine versus colchicine and long-term open study of cyclosporine in Behçet's disease. *Lancet* 8647 : 1093—1095, 1989.
 - 31) **Gery I, Wiggert B, Redmond TM, Kuwabara T, Crawford MA, Vistica BP, et al** : Uveoretinitis and pinealitis induced by immunization with interphotoreceptor retinoid-binding protein. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27 : 1296—1300, 1990.
 - 32) **Kawashima H, Mochizuki M** : Effects of a new immunosuppressive agent, FK506, on the efferent limb of the immune responses. *Exp Eye Res* 51 : 565—572, 1990.
 - 33) **Mochizuki M, Kawashima H** : Effects of FK506, 15-deoxyspergualin, and cyclosporine on experimental autoimmune uveoretinitis in the rat. *Autoimmunity* 8 : 37—41, 1990.
 - 34) **Kawashima H, Fujino Y, Mochizuki M** : Antigen-specific suppressor cells induced by FK506 in experimental autoimmune uveoretinitis in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31 : 2500—2507, 1990.
 - 35) **Iwase K, Fujii Y, Nakashima I, Kato N, Fujino Y, Kawashima H, et al** : A new method for induction of experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in mice. *Curr Eye Res* 9 : 207—216, 1990.
 - 36) **望月 學** : 眼科領域における免疫療法. *日眼会誌* 96 : 1608—1634, 1992.
 - 37) **Mochizuki M, Masuda K, Sakane T, Ito K, Kogure M, Sugino N, et al** : A clinical trial of FK 506 in refractory uveitis. *Am J Ophthalmol* 115 : 763—769, 1993.
 - 38) **Dua HS, Lee RH, Lolley RN, Barrett JA, Abrams M, Forrester JV, et al** : Induction of experimental autoimmune uveitis by the retinal photoreceptor cell protein, phosducin. *Curr Eye Res* 11 (Suppl) : 107—111, 1992.
 - 39) **Mochizuki M, deSmet M** : Use of immunosuppressive agents in ocular diseases. *Prog Ret Eye Res* 13 : 479—506, 1994.
 - 40) **Caspi RR, Silver PB, Chan CC, Sun B, Agarwal RK, Wells J, et al** : Genetic susceptibility to experimental autoimmune uveoretinitis in the rat is associated with an elevated Th1 response. *J Immunol* 157 : 2668—2675, 1996.
 - 41) **Sun B, Rizzo LV, Sun SH, Chan CC, Wiggert B, Wilder RL, et al** : Genetic susceptibility to experimental autoimmune uveitis involves more than a predisposition to generate a T helper-1-like or a T helper-2-like response. *J Immunol* 159 : 1004—1011, 1997.
 - 42) **Gery I, Chanaud NP 3rd, Anglade E** : Recoverin is highly uveitogenic in Lewis rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35 : 3342—3345, 1994.
 - 43) **Tarrant TK, Silver PB, Chan CC, Wiggert B, Caspi RR** : Endogenous IL-12 is required for induction and expression of experimental autoimmune uveitis. *J Immunol* 161 : 122—127, 1998.
 - 44) **Jiang HR, Lumsden L, Forrester JV** : Macrophages and dendritic cells in IRBP-induced experimental autoimmune uveoretinitis in B10 RIII mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 3177—3185, 1999.
 - 45) **Takeuchi M, Yokoi H, Tsukahara R, Sakai J, Usui M** : Differentiation of Th1 and Th2 cells in lymph nodes and spleens of mice during experimental autoimmune uveoretinitis. *Jpn J Ophthalmol* 45 : 463—469, 2001.
 - 46) **Robertson M, Liversidge J, Forrester JV, Dick AD** : Neutralizing tumor necrosis factor- α activity suppresses activation of infiltrating macrophages in experimental autoimmune uveoretinitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 3034—3041, 2003.
 - 47) **Sonoda KH, Sasa Y, Qiao H, Tsutsumi C, Hisatomi T, Komiyama S, et al** : Immunoregulatory role of ocular macrophages : the macrophages produce RANTES to suppress experimental auto-

- immune uveitis. *J Immunol* 171 : 2652—2659, 2003.
- 48) **Wilder G, Diedrichs-Mohring M** : Autoimmune uveitis induced by molecular mimicry of peptides from rotavirus, bovine casein and retinal S-antigen. *Eur J Immunol* 33 : 2577—2587, 2003.
 - 49) **Avichezer D, Grajewski RS, Chan CC, Mattapallil MJ, Silver PB, Raber JA**, et al : An immunologically privileged retinal antigen elicits tolerance : major role for central selection mechanisms. *J Exp Med* 198 : 1665—1676, 2003.
 - 50) **Keino H, Takeuchi M, Kezuka T, Yamakawa N, Tsukahara R, Usui M** : Chemokine and chemokine receptor expression during experimental autoimmune uveoretinitis in mice. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 241 : 111—115, 2003.
 - 51) **Kezuka T, Takeuchi M, Keino H, Usui Y, Takeuchi A, Yamakawa N**, et al : Peritoneal exudate cells treated with calcitonin gene-related peptide suppress murine experimental autoimmune uveoretinitis via IL-10. *J Immunol* 173 : 1454—1462, 2004.
 - 52) **Gegg ME, Harry R, Hankey D, Zambarakji H, Pryce G, Baker D**, et al : Suppression of autoimmune retinal disease by lovastatin dose not require Th2 cytokine induction. *J Immunol* 174 : 2327—2335, 2005.
 - 53) **Keino H, Kezuka T, Takeuchi M, Yamakawa N, Hattori T, Usui M** : Prevention of experimental autoimmune uveoretinitis by vasoactive intestinal peptide. *Arch Ophthalmol* 122 : 1179—1184, 2004.
 - 54) **Grajewski RS, Silver PB, Agarwal RK, Su SB, Chan CC, Liou GI**, et al : Endogenous IRBP can be dispensable for generation of natural CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells that protect from IRBP-induced retinal autoimmunity. *J Exp Med* 203 : 851—856, 2006.
 - 55) **Keino H, Takeuchi M, Usui Y, Hattori T, Yamakawa N, Kezuka T**, et al : Supplementation of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells suppresses experimental autoimmune uveoretinitis. *Br J Ophthalmol* 91 : 105—110, 2007.
 - 56) **Tang J, Zhu W, Silver PB, Su SB, Chan CC, Caspi RP** : Autoimmune uveitis elicited with antigen-pulsed dendritic cells has a distinct clinical signature and is driven by unique effector mechanisms : initial encounter with autoantigen defines disease phenotype. *J Immunol* 178 : 5578—5587, 2007.
 - 57) **Amadi-Obi A, Yu CR, Liu X, Mahdi RM, Clarke GL, Nussenblatt RB**, et al : TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1. *Nat Med* 13 : 711—718, 2007.
 - 58) 臼井正彦 : 実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (EAU) のトランスレーショナルリサーチ. *日眼会誌* 111 : 137—159, 2007.
 - 59) **Yoshimura T, Sonoda KH, Miyazaki Y, Iwakura Y, Ishibashi T, Yoshimura A**, et al : Differential roles for IFN- γ and IL-17 in experimental autoimmune uveoretinitis. *Int Immunol* 20 : 209—214, 2008.
 - 60) **Liu X, Lee YS, Yu CR, Egwuagu CE** : Loss of STAT3 in CD4⁺ T cells prevents development of experimental autoimmune diseases. *J Immunol* 180 : 6070—6076, 2008.
 - 61) **Ravency BJ, Richards C, Akin ML, Copland DA, Burton BR, Kert E**, et al : The B subunit of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin inhibits Th1 but not Th17 cell responses in established experimental autoimmune uveoretinitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 4008—4017, 2008.
 - 62) **Kaplan HJ** : Immune response to immunization via the anterior chamber of the eye. *J Immunol* 118 : 809—814, 1977.
 - 63) **Kaplan HJ, Streilein JW** : Immune response to immunization via the anterior chamber of the eye. II. An analysis of F1 lymphocyte induced immune deviation. *J Immunol* 120 : 689—693, 1978.
 - 64) **Streilein JW, Niederkorn JY, Shadduck JA** : Systemic immune unresponsiveness induced in adult mice by anterior chamber presentation of minor histocompatibility antigens. *J Exp Med* 152 : 1121—1125, 1980.
 - 65) **Niederkorn J, Streilein JW, Shadduck JA** : Deviant immune responses to allogeneic tumors injected intracamerally and subcutaneously in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 20 : 355—363, 1980.
 - 66) **Ksander BR, Streilein JW** : Analysis of cytotoxic T cell responses to intracameral allogeneic tumors. I. Quantitative and qualitative analysis of cytotoxic precursor and effector cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30 : 323—329, 1989.
 - 67) **Wilbanks GA, Streilein JW** : Distinctive humoral responses following anterior chamber and intravenous administration of soluble antigen. Evidence for active suppression of IgG_{2a}-secreting B-cells. *Immunology* 71 : 566—572, 1990.
 - 68) **Streilein JW, Bradley D** : Analysis of immunosuppressive properties of iris and ciliary body cells and their secretory products. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32 : 2700—2710, 1991.
 - 69) **Streilein JW** : Immune privilege as the result of local tissue barriers and immunosuppressive microenvironments. *Curr Opin Immunol* 5 : 428—432, 1993.
 - 70) **Streilein JW** : Ocular immune privilege and the faustian dilemma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37 : 1940—1950, 1996.
 - 71) **Streilein JW, Ksander BR, Taylor AW** : Immune deviation in relation to ocular immune privilege. *J Immunol* 158 : 2557—3560, 1997.
 - 72) **Streilein JW** : Molecular basis of ACAID. *Ocul Immunol Inflamm* 5 : 217—218, 1997.

- 73) **Takeuchi M, Alard P, Streilein JW** : TGF- β promotes immune deviation by altering accessory signals of antigen-presenting cells. *J Immunol* 160 : 1589—1597, 1998.
- 74) **Taylor AW** : Ocular immunosuppressive micro-environment. *Chem Immunol* 73 : 72—89, 1999.
- 75) **Nishida T, Taylor AW** : Specific aqueous humor factors induce activation of regulatory T cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 2268—2274, 1999.
- 76) **Yoshida M, Takeuchi M, Streilein JW** : Participation of pigment epithelium of iris and ciliary body in ocular immune privilege. 1. inhibition of T-cell activation *in vitro* by direct cell-to-cell contact. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 811—821, 2000.
- 77) **Yoshida M, Kezuka T, Streilein JW** : Participation of pigment epithelium of iris and body in ocular immune privilege. 2. Generation of regulatory T cells that suppress bystander T cells via TGF- β . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 3862—3870, 2000.
- 78) **Niederhorn JY** : Immune privilege in the anterior chamber of the eye. *Crit Rev Immunol* 22 : 13—14, 2002.
- 79) **Ishida K, Panjwani N, Cao Z, Streilein JW** : Participation of pigment epithelium of iris and ciliary body in ocular immune privilege. 3. Epithelia cultured from iris, ciliary body, and retina suppress T cell activation by partially non-overlapping mechanisms. *Ocul Immunol Inflamm* 11 : 91—105, 2003.
- 80) **Streilein JW** : Ocular immune privilege : therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nat Rev Immunol* 3 : 879—889, 2003.
- 81) **Sugita S, Streilein JW** : Iris pigment epithelium expressing CD86 (B 7-2) directly suppresses T cell activation *in vitro* via binding to cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 198 : 161—171, 2003.
- 82) **Sugita S, Ng TF, Schwartzkopff J, Streilein JW** : CTLA-4⁺CD8⁺ T cells that encounter B 7-2⁺ iris pigment epithelial cells express their own B 7-2 to achieve global suppression of T cell activation. *J Immunol* 172 : 4184—4194, 2004.
- 83) **Sugita S, Ng TF, Lucas PJ, Gress RE, Streilein JW** : B 7⁺ iris pigment epithelium induced CD8⁺ T regulatory cells ; both suppress CTLA-4⁺ T cells. *J Immunol* 176 : 118—127, 2006.
- 84) **Sugita S, Keino H, Futagami Y, Takase H, Mochizuki M, Stein-Streilein J, et al** : B 7⁺ iris pigment epithelial cells convert T cells into CTLA-4⁺, B 7-expressing CD8⁺ regulatory T cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 5376—5384, 2006.
- 85) **Sugita S, Futagami Y, Smith B, Naggar H, Mochizuki M** : Retinal and ciliary body pigment epithelium suppress activation of T lymphocytes via transforming growth factor beta. *Exp Eye Res* 83 : 1459—1471, 2006.
- 86) **Futagami Y, Sugita S, Vega J, Ishida K, Takase H, Maruyama K, et al** : Role of thrombospondin-1 in T cell response to ocular pigment epithelial cells. *J Immunol* 178 : 6994—7005, 2007.
- 87) **Sugita S, Takase H, Taguchi C, Mochizuki M** : The role of soluble TNF receptors for TNF- α in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 3246—3252, 2007.
- 88) **Sugita S, Taguchi C, Takase H, Sagawa K, Sueda J, Fukushi K, et al** : Soluble Fas ligand and soluble Fas in ocular fluid of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol* 84 : 1130—1134, 2000.
- 89) **Takase H, Sugita S, Rhee DJ, Imai Y, Taguchi C, Sugamoto Y, et al** : The presence of macrophage migration inhibitory factor in human trabecular meshwork and its upregulatory effects on the T helper 1 cytokine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 2691—2696, 2002.
- 90) **Sugita S, Horie S, Nakamura O, Futagami Y, Takase H, Keino H, et al** : Retinal pigment epithelium-derived cytotoxic T lymphocyte antigen-2 α induces TGF β -producing T regulatory cells. *J Immunol* 181 : 7525—7536, 2008.
- 91) **Vogt A** : Fruhzeitiges ergrauen der Zilien und Bemerkungen uber den sogenannten plotzlichen Eintritt dieser Veranderung. *K Monatsbl Augenhk* 44 : 228—242, 1906.
- 92) 小柳美三 : 葡萄膜炎ニ伴フ毛髪ノ脱落白變ニ就テ. *日眼会誌* 18 : 1183—1193, 1914.
- 93) 原田永之助 : 非化膿性脈絡膜炎ノ臨牀知見補遺(急性瀰漫性脈絡膜炎ニ就テ). *日眼会誌* 30 : 356—378, 1926.
- 94) 猪俣 猛 : フォークト・小柳・原田病. 猪俣 猛, 大西克尚, 向野利彦, 石橋達朗(編) : 網脈絡膜疾患の臨床病理. 医学書院, 東京, 88—93, 1989.
- 95) **Yamaki K, Kondo I, Nakamura H, Miyano M, Konno S, Sakuragi S** : Ocular and extraocular inflammation induced by immunization of tyrosinase related protein 1 and 2 in Lewis rats. *Exp Eye Res* 71 : 361—369, 2000.
- 96) **Yamaki K, Gocho K, Hayakawa K, Kondo I, Sakuragi S** : Tyrosinase family proteins are antigens specific to Vogt-Koyanagi-Harada disease. *J Immunol* 165 : 7323—7329, 2000.
- 97) **Gocho K, Kondo I, Yamaki K** : Identification of autoreactive T cells in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 2004—2009, 2001.
- 98) **Yamaki K, Takiyama N, Itho N, Mizuki N, Seiya M, Sinsuke W, et al** : Experimentally induced Vogt-Koyanagi-Harada disease in two Akita dogs. *Exp Eye Res* 80 : 273—280, 2005.
- 99) **Sugita S, Sagawa K, Mochizuki M, Shichijo S, Itoh K** : Melanocyte lysis by cytotoxic T lymphocytes recognizing the MART-1 melanoma antigen in HLA-A 2 patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Int Immunol* 8 : 799—803, 1996.
- 100) **Sugita S, Takase H, Taguchi C, Imai Y, Kamoi**

- K, Kawaguchi T**, et al : Ocular infiltrating CD4⁺ cells from patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease recognize human melanocyte antigens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 2547—2554, 2006.
- 101) **Shindo Y, Inoko H, Yamamoto T, Ohno S** : HLA-DRB1 typing of Vogt-Koyanagi-Harada's disease by PCR-RFLP and the strong association of DRB1*0405 and DRB1*0410. *Br J Ophthalmol* 78 : 223—226, 1994.
 - 102) **Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita K**, et al : Adult T-cell leukemia : antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA* 78 : 6476—6480, 1981.
 - 103) **Yoshida M, Miyashi I, Hinuma Y** : Isolation and characterization of retrovirus from cell lines of human adult T-cell leukemia and its implication in the disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 79 : 2031—2035, 1982.
 - 104) **Yoshida M, Seiki M, Yamaguchi K, Takatsuki K** : Monoclonal integration of human T-cell leukemia provirus in all primary tumors of adult T-cell leukemia suggests causative role of human T-cell leukemia virus in the disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 81 : 2534—2537, 1984.
 - 105) **Tajima K, The T, B-cell Malignancy Study Group** : The 4th nation-wide study of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) in Japan : Estimates of risk of ATL and its geographical and clinical features. *Int J Cancer* 45 : 237—243, 1990.
 - 106) **Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H** : Adult T-cell leukemia : clinical and hematological features of 16 cases. *Blood* 50 : 481—492, 1977.
 - 107) **Yamaguchi K, Seiki M, Yoshida M, Nishimura H, Kawano F, Takatsuki K** : The detection of human T-cell leukemia virus provirus DNA and its application for classification and diagnosis of T-cell malignancy. *Blood* 63 : 1235—1240, 1984.
 - 108) **Salahuddin SZ, Markham PD, Lindner SG, Gootenberg J, Popovic M, Hemmi H**, et al : Lymphokine production by cultured human T cells transformed by human T-cell leukemia-lymphoma virus- I. *Science* 223 : 703—707, 1984.
 - 109) **Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gou O, Galender A, de-The G** : Antibodies to the human T-lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* 2 : 407—410, 1985.
 - 110) **Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A** : HTLV- I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* 1 : 1031—1032, 1986.
 - 111) 大庭紀雄, 鮫島宗文, 上原文行, 鶴木一彦, 上村昭典, 平島節生, 他 : HTLV- I ウイルス感染の眼科的検討. *あたらしい眼科* 5 : 265—267, 1988.
 - 112) 中尾久美子, 大庭紀雄, 松元 実 : ヒト T リンパ球指向性ウイルス 1 型 (HTLV- I) 感染に関連したぶどう膜炎—HTLV- I -associated uveitis (HAU) 一. *あたらしい眼科* 6 : 1549—1551, 1989.
 - 113) 横山八千代, 伊佐敷誠, 上原文行, 大庭紀雄, 有馬直道 : 成人 T 細胞白血病における眼症状. *臨眼* 42 : 139—141, 1988.
 - 114) **Ohba N, Matsumoto M, Sameshima M, Kabayama Y, Nakao K, Unoki K**, et al : Ocular manifestations in patients with human T-lymphotropic virus type I. *Jpn J Ophthalmol* 33 : 1—12, 1989.
 - 115) **Nakao K, Ohba N, Matsumoto M** : Noninfectious anterior uveitis in patients with human T-lymphotropic virus type I. *Jpn J Ophthalmol* 33 : 472—481, 1989.
 - 116) 玉井一司, 白井正一郎 : 抗ヒト T リンパ球指向性ウイルス I 型抗体陽性の患者にみられたぶどう膜炎. *眼紀* 42 : 44—48, 1991.
 - 117) **Nakao K, Matsumoto M, Ohba N** : Seroprevalence of antibodies to HTLV- I in patients with ocular disorders. *Br J Ophthalmol* 75 : 76—78, 1991.
 - 118) **Sasaki K, Morooka I, Inomata H, Kashio N, Akamine T, Osame M** : Retinal vasculitis in human T-lymphotropic virus type I associated myelopathy. *Br J Ophthalmol* 73 : 812—815, 1989.
 - 119) **Hayasaka Y, Takatori Y, Noda S, Hayashi H** : Retinal vasculitis in a mother and her son with human T-lymphotropic virus type I associated myelopathy. *Br J Ophthalmol* 75 : 566—567, 1991.
 - 120) 稲田晃一郎, 牧野晶子, 根木 昭, 緒方圭治, 池間昌陸, 久富木原 真 : HTLV- I 高浸淫地区における HTLV- I ぶどう膜炎の有病率. *臨眼* 51 : 1839—1842, 1997.
 - 121) **Mochizuki M, Watanabe T, Yamaguchi T, Takatsuki K, Yoshimura K, Shirao M**, et al : HTLV- I uveitis : a distinct clinical entity caused by HTLV- I. *Jpn J Cancer Res* 85 : 236—239, 1992.
 - 122) **Mochizuki M, Watanabe T, Yamaguchi K, Yoshimura K, Nakashima S, Shirao M**, et al : Uveitis associated with human T-cell lymphotropic virus type I. *Am J Ophthalmol* 114 : 123—129, 1992.
 - 123) **Mochizuki M, Watanabe T, Yamaguchi K, Tajima K, Yoshimura K, Nakashima S**, et al : Uveitis associated with human T lymphotropic virus type I : seroepidemiological, clinical and virological studies. *J Infect Dis* 166 : 943—944, 1992.
 - 124) **Yoshimura K, Mochizuki M, Araki S, Miyata N, Yamaguchi K, Tajima K**, et al : Clinical and immunological features of human T-cell lymphotropic virus type I uveitis. *Am J Ophthalmol* 116 : 156—163, 1993.
 - 125) **Yamaguchi K** : Human T-lymphotropic virus type I in Japan. *Lancet* 343 : 213—216, 1994.
 - 126) **Yamaguchi K, Mochizuki M, Watanabe T**,

- Yoshimura K, Shirao M, Araki S, et al : Human T lymphotropic virus type 1 uveitis after Graves' disease. *Br J Ophthalmol* 78 : 163—166, 1994.
- 127) Ono A, Miura T, Araki S, Yamaguchi K, Takatsuki K, Mori S, et al : Subtype analysis of HTLV-I in patients with HTLV-I uveitis. *Jpn J Cancer Res* 85 : 767—770, 1994.
- 128) Ono A, Mochizuki M, Yamaguchi K, Miyata N, Watanabe T : Increased number of circulating HTLV-I infected cells in peripheral blood mononuclear cells of HTLV-I uveitis patients : a quantitative polymerase chain reaction study. *Br J Ophthalmol* 79 : 270—276, 1995.
- 129) Sagawa K, Mochizuki M, Masuoka K, Katagiri K, Katayama T, Maeda T, et al : Immunopathological mechanisms of human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-I) uveitis : detection of HTLV-I-infected T cells in the eye and their constitutive cytokine production. *J Clin Invest* 95 : 852—858, 1995.
- 130) Masuoka K, Sagawa K, Mochizuki M, Oisumi K, Itoh K : Polyclonal use of T-cell receptor α for human T-cell lymphotropic virus type 1-infected T cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36 : 254—258, 1995.
- 131) Mochizuki M, Watanabe T, Yamaguchi K, Tajima K : Human T-lymphotropic virus type I associated disease. In : Pepose JS, et al (Eds) : *Infection & Immunology*. Mosby, St. Louis, 1366—1387, 1996.
- 132) 鶴田 実, 池田英子, 疋田直史, 望月 學, 岡田浩輔, 宮田典男, 他 : 九州北部・南部および関東地方におけるぶどう膜炎の比較. *眼紀* 47 : 854—857, 1996.
- 133) 木原邦博, 鶴田 実, 小野綾子, 池田英子, 疋田直史, 宮田典男, 他 : 小児にみられたヒト T リンパ球向性ウイルス 1 型ぶどう膜炎の 5 例. *日眼会誌* 101 : 538—543, 1997.
- 134) Ono A, Mochizuki M, Yamaguchi K, Miyata N, Watanabe T : Immunologic and virologic characterization of the primary infiltrating cells in the aqueous humor of human T-cell leukemia virus type 1 uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 676—689, 1997.
- 135) Ono A, Ikeda E, Mochizuki M, Matsuoka M, Yamaguchi K, Sawada T, et al : Provirus load in patients with human T-cell leukemia virus type 1 uveitis correlates with precedent Graves' disease and disease activity. *Jpn J Cancer Res* 89 : 608—614, 1998.
- 136) 池田英子, 小野綾子, 疋田直史, 有馬加津子, 望月 學, 山口一成, 他 : 福岡県筑後地方における HTLV-I ぶどう膜炎の推定有病率. *日眼会誌* 102 : 327—332, 1998.
- 137) 池田英子, 小野綾子, 疋田直史, 望月 學, 川端勝徳, 前田邦彦, 他 : 対馬成人検診における HTLV-I キャリアと非キャリアの臨床所見の比較. *眼紀* 49 : 604—610, 1998.
- 138) Taylor AW, Streilein JW, Cousins SW : Immuno-reactive vasoactive intestinal peptide contributes to the immunosuppressive activity of normal aqueous humor. *J Immunol* 153 : 1080—1086, 1994.
- 139) Taylor AW, Streilein JW, Cousins SW : Identification of alpha-melanocyte stimulating hormone as a potential immunosuppressive factor in aqueous humor. *Curr Eye Res* 11 : 1199—1206, 1992.
- 140) McAdam AJ, Schweitzer AN, Sharpe AH : The role of B7 co-stimulation in activation and differentiation of CD4⁺ and CD8⁺ T cells. *Immunol Rev* 165 : 231—247, 1998.
- 141) Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH : The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol* 23 : 515—548, 2005.
- 142) Brunet JF, Denizot F, Luciani MF, Roux-Dosseto M, Suzan M, Mattei MG, et al : A new member of the immunoglobulin superfamily—CTLA-4. *Nature* 328 : 267—270, 1987.
- 143) Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, et al : Conversion of peripheral CD4⁺ CD25-naïve T cells to CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp 3. *J Exp Med* 198 : 1875—1886, 2003.
- 144) Sakaguchi S : Naturally arising Foxp 3-expressing CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 6 : 345—352, 2005.
- 145) Sugita S, Futagami Y, Horie S, Mochizuki M : Transforming growth factor β -producing Foxp 3⁺ CD8⁺CD25⁺T cells induced by iris pigment epithelial cells display regulatory phenotype and acquire regulatory functions. *Exp Eye Res* 85 : 626—636, 2007.

Comment : 大野 重昭

この度、第 112 回日本眼科学会総会で行われた望月 學教授による特別講演「眼内炎症と恒常性維持」は非常に斬新、かつ独創性に優れ、国際的にも世界の眼免疫学をリードする素晴らしい内容であった。この講演を拝聴した多くの日本眼科学会会員諸氏は強い感銘を受けるとともに、日本からこれだけの最新データが世界に向けて発信されたことに大きな誇りを感じたことであろう。

本論文を読ませていただくと、望月教授のライフワークである眼免疫学、とりわけ眼局所での免疫応答の特殊性、眼内微小免疫環境の検討、そして全身免疫機構とは異なる透明性維持のための特殊な眼内免疫恒常性維持機構の解明過程が詳細に記載されている。

本論文は大きく 3 つの研究課題から成り立っている。最初の「1. ぶどう膜炎動物モデルにおける眼内炎症発症機構」の部分では、 $CD4^+$ T リンパ球が実験的自己免疫性ぶどう膜炎(EAU)発症の中心的役割を担っていることを明らかにした。これは望月教授がアメリカの National Eye Institute グループとともに世界に先駆けて見出したものであり、これをもとにシクロスポリンやタクロリムス治療が臨床応用される重要な基礎データとなった。次いで「2. ヒトのぶどう膜炎における眼内炎症発症機構」の部分では、日本人に多発する Vogt-小柳-原田病(原田病)および HTLV-1 ぶどう膜炎を取り上げ、両疾患の発症機構を分子免疫学的に検討した。なかでも原田病では tyrosinase とサイトメガロウイルスの分子擬態説を提唱され、原田病におけるサイトメガロウイルスの関与を世界で初めて報告した。一方、HTLV-1 ぶどう膜炎の研究は、やはり世界の研究者の追隨を許さない望月教授の非常にオリジナリティの高い研究成果である。眼内炎症局所から樹立された HTLV-1 感染 $CD4^+$ T リンパ球の各種サイトカイン産生、発症機構の解明が見事に記載されている。そして最後の「3. 眼内局所防御機構」の章では、望月教授の最新の研究テーマである眼内の特殊免疫機構について、眼色素上皮細胞の免疫抑制作用を解明した。特に虹彩色素上皮は $CD4^+$ T リンパ球と直接接触して抑制作用を示すのに対し、網膜色素上皮は可溶性因子を介して T リンパ球機能を抑制することを明らかにした。また、制御性 T 細胞の機能解析、臨床応用は近未来の眼内炎症新規治療法として大きな期待がもたれる。

これらの成果はいずれも海外の一流雑誌にきちんと英文原著論文として掲載され、日本発の独創性あふれる業績として世界的に高い評価を受けていることはいうまでもない。眼という非常に特殊な微小環境における炎症の発症機構、防御機構を動物モデル、そしてヒトの眼内炎症性疾患を対象にして、詳細かつ綿密に研究を進め、その輝かしい成果が報告されている本論文は、明日の日本の眼科学を担う多くの若手眼科医師、眼科研究者に大きな励みとなるものであり、研究者としてのあるべき姿を示している。ここに改めて望月 學教授、およびご一門の皆様の長年のご努力に対し、心からの敬意と祝福を贈りたい。