

血清中の B7 が T 細胞の CTLA4 発現を誘導する。CTLA4 の発現亢進により急性肝不全患者の後天性免疫が低下する。

**Increased Expression of Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4 by T Cells, Induced by B7 in Sera, Reduces Adaptive Immunity in Patients With Acute Liver Failure.** [Gastroenterology 153, 263–276, 2017](#)

#### 【背景と目的】

急性肝不全の患者は、病原微生物に対する自然免疫応答に欠陥があり（免疫麻痺）、敗血症になりやすい。CTLA4（細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4）は膜受容体 B7（CD80 および CD86 と呼ばれる）と相互作用する。CTLA4 は T 細胞の活性化を抑制する受容体である。我々は、急性肝不全の患者から T 細胞を採集し、これらの抑制因子が急性肝不全患者の後天性免疫応答を阻害するかどうかを調べた。

#### 【方法】

急性肝不全患者とコントロールから末梢血単核球を採取した（急性肝不全患者 45 人、Acute-on Chronic 肝不全患者 20 人、代償性肝硬変患者 15 人、敗血症ショックの非肝臓病患者 20 人、20 人の健常者）。研究期間は 2013 年 9 月から 2015 年 9 月まで。

末梢 CD4<sup>+</sup>T 細胞を分離し、フローサイトメトリーにより解析した。CD4<sup>+</sup>T 細胞は抗原または CD3 アゴニスト + 樹状細胞を加え、CTLA4 抗体の添加の有無別に培養した。そして T 細胞の増殖とタンパク質の発現を定量した。健常者と肝疾患患者の肝臓組織から単離した初代培養肝細胞、類洞内皮細胞、胆管上皮細胞の培養液上清中の可溶性 B7 濃度を測定した。また、患者とコントロールの血清中の可溶性 B7 濃度を ELISA 法で測定した。

#### 【結果】

急性肝不全患者の末梢血は、対照よりも CD4<sup>+</sup>CTLA4<sup>+</sup>T 細胞の割合が高かった。感染症の患者においてその割合が最も高かった。急性肝不全患者の CD4<sup>+</sup>T 細胞は、対照群に比較して、抗原や CD3 刺激に対する増殖反応が低下していた。急性肝不全患者の CD4<sup>+</sup>T 細胞に CTLA4 抗体を添加して培養すると、抗原および CD3 刺激に対する増殖応答が増加して、コントロール群と同じ程度になった。コントロール群の CD4<sup>+</sup>T 細胞は、急性肝不全患者の血清を添加して 24~48 時間培養すると、CTLA4 の発現が増加した。この血清は対照血清と比較して可溶性 B7 濃度が高いことが判明した。

アセトアミノフェンに暴露した壊死ヒト初代肝細胞は可溶性 B7 を高濃度に分泌したが、急性肝不全患者の肝類洞内皮細胞や胆管上皮細胞は B7 を分泌しなかった。アセトアミノフェン肝障害のマウス血清は、正常肝マウスの血清と比べて、可溶性 B7 濃度が高かった。

急性肝不全患者の末梢血中の可溶性 B7 濃度と T 細胞上の CTLA4 発現

は、血漿交換によって低下した。

【結論】

急性肝不全患者の末梢血中 CD4<sup>+</sup>T 細胞は、急性肝不全でない患者と比較して、CTLA4 発現が増加していた。これらの細胞は抗原および CD3 刺激に対する反応が低下していた。急性肝不全患者の血清中の可溶性 B7 濃度は高く、それが T 細胞の CTLA4 発現を亢進させて、抗原に対する応答を低下させた。急性肝不全患者の血清 B7 濃度は血漿交換により低下して、患者の抗菌反応が回復する期待がある。

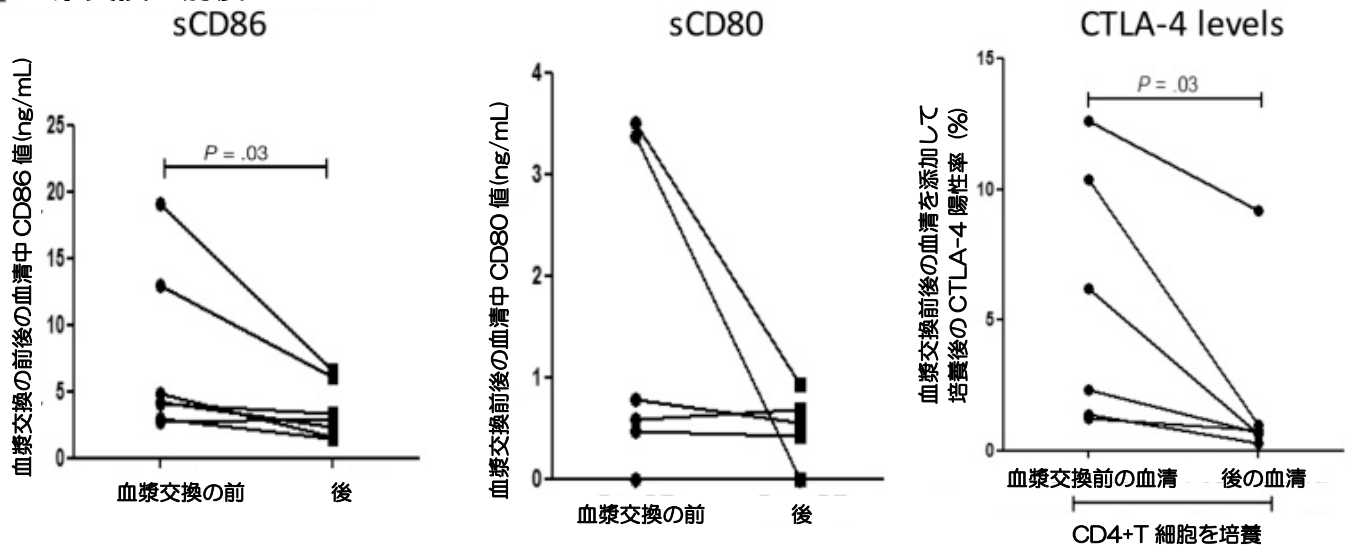
【解説】

最近の研究では、急性肝不全患者は微生物に対する自然免疫応答の欠陥が指摘されており、**免疫麻痺**と呼ばれる。免疫麻痺は二次感染を起こしやすくする。感染症は急性肝不全の第 1 の死因である。

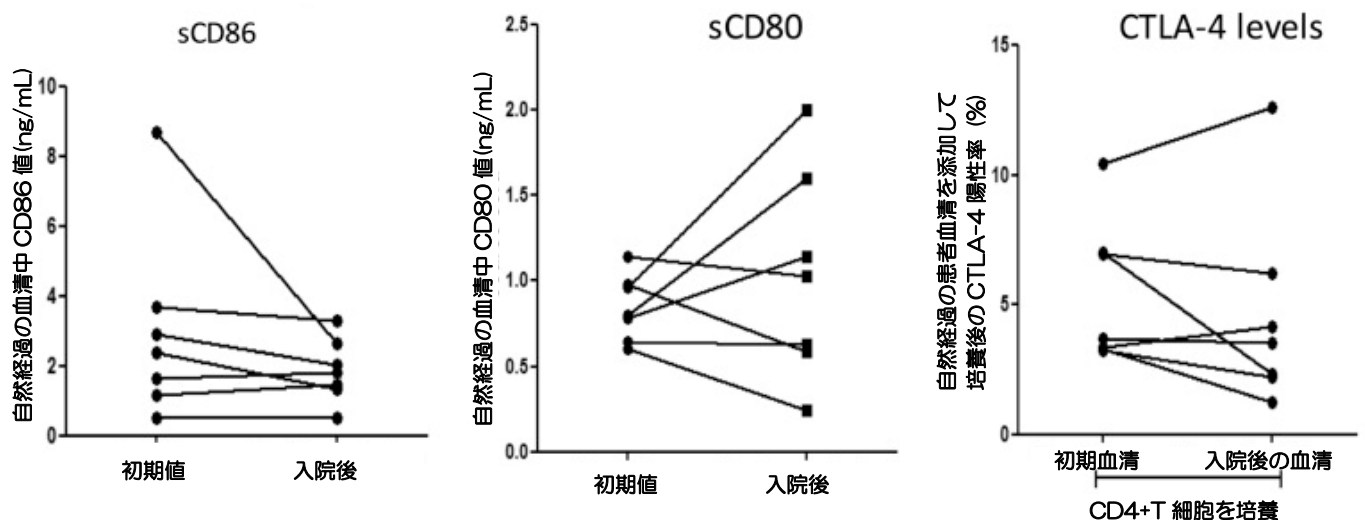
敗血症における後天性の免疫機能不全には、**T<sub>reg</sub> 細胞（抑制性 T 細胞）**の増加、PD-1 や CTLA4 などの抑制因子の上昇があり、IFN $\gamma$  産生や T 細胞増殖能が低下する。重度の敗血症では CTLA4 発現が亢進して、T 細胞の活性化や抗菌反応を阻害する。したがって、PD-1 および CTLA4 調節経路を遮断すれば、敗血症患者の生存が改善する可能性がある。

可溶性 B7 リガンドによって CD4<sup>+</sup>T 細胞の負の制御因子である CTLA4 が持続的に発現し、T 細胞の活性化が抑制される。急性肝不全の末梢 CD4<sup>+</sup>T 細胞の反応性低下が、感染症の発症に関係する。

## A 血漿交換の前後



## B 自然経過（血漿交換をしていない）



☒ 血漿交換により血液中の sCD80 と sCD86 が除去され、 $CD4^+$  T 細胞上に表出される CTLA4 が減少する。A, B とも  $n=7$ 。s=可溶性。

左列と中列

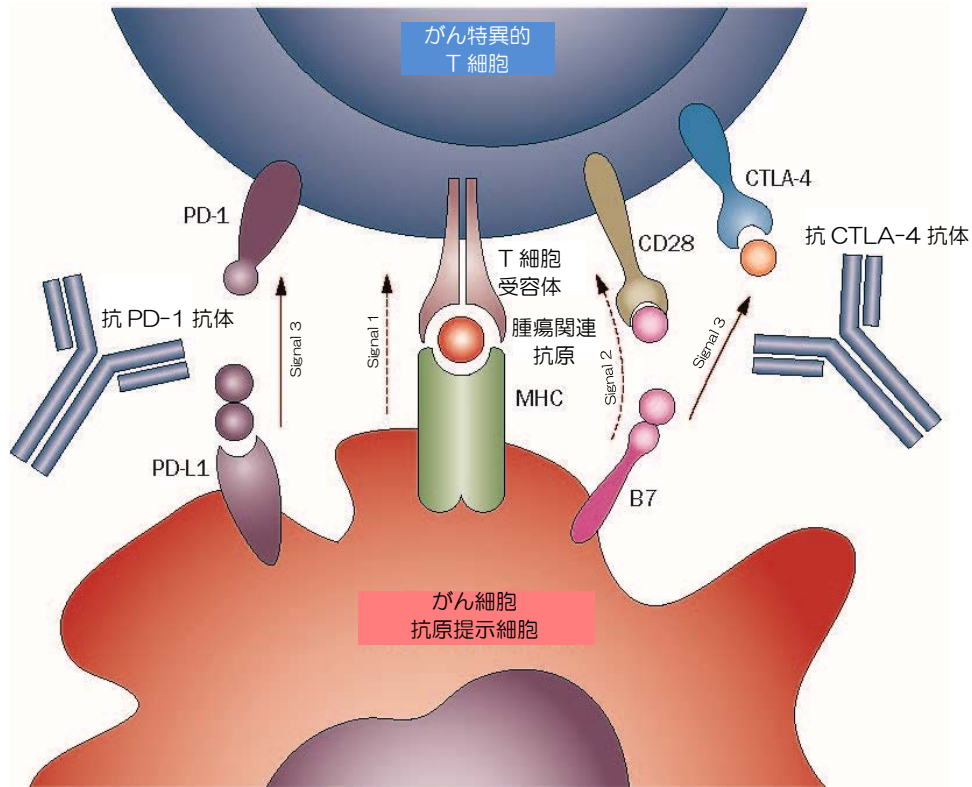
(A) 血漿交換前後の血清 sCD86 (左) および sCD80 (中) 濃度 (ELISA 法)。

(B) 自然経過における血清 sCD86 (左) および sCD80 (中) 濃度 (ELISA 法)。

右列

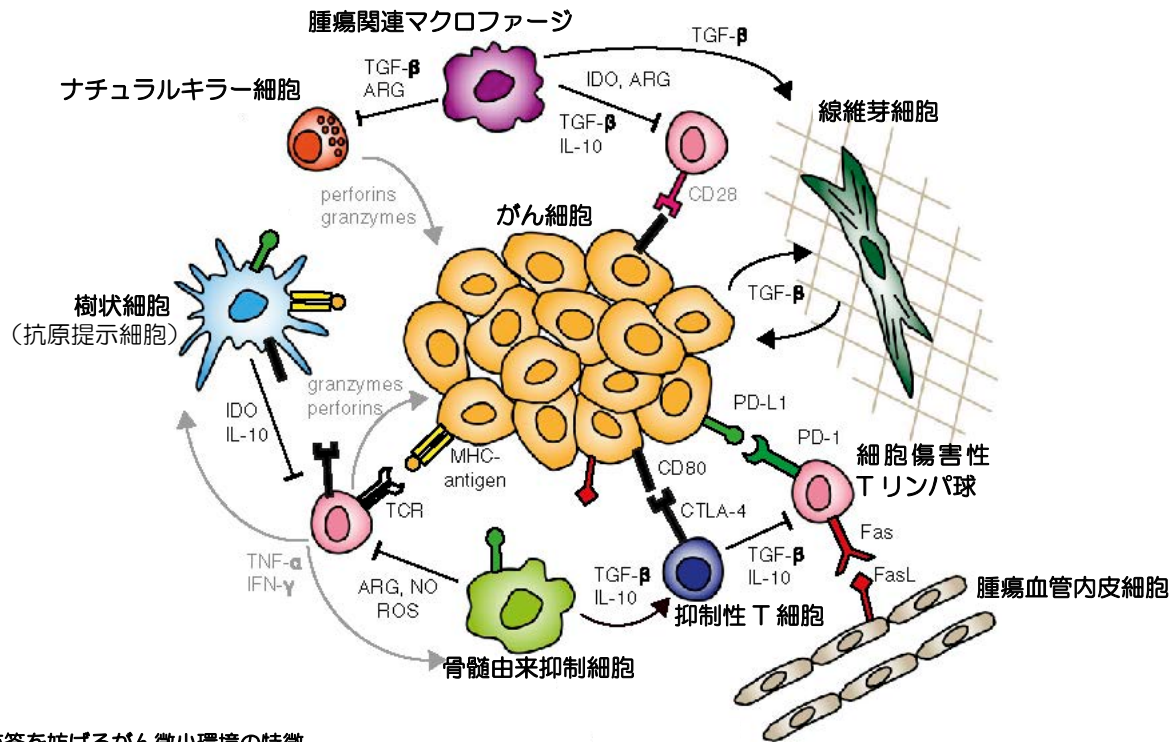
(A) 正常者から分離精製した  $CD4^+$  T 細胞を、血漿交換前後の患者血清を培養液に添加して培養し、フローサイトメトリーによって CTLA4 濃度を測定した。

(B) 自然経過（血漿交換をしなかった）の患者血清を添加した群。



#### 免疫チェックポイントの阻害

CTLA-4 に対する抗体 (イピリムマブ, tremilimumab) が最初に実用化された。次に関されたのが、T 細胞上の PD-1 と、抗原提示細胞やがん細胞上のリガンド PD-L1 の阻害薬である。



#### 免疫応答を妨げるがん微小環境の特徴

抑制性 T 細胞は TGF-β および IL-10 を分泌して、細胞傷害性 T リンパ球の殺傷機能を抑制する。その一方で、骨髄由来抑制細胞は ARG (アルギナーゼ)、一酸化窒素 (NO)、活性酸素種 (ROS) を分泌して、細胞傷害性 T リンパ球を抑制する。未熟ないし抑制性の樹状細胞は、IL-10 とインドールアミン 2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) を分泌した上で抗原を T 細胞に提示するため、チェックポイント分子である PD-1 や CTLA-4 に対するリガンドを過剰に発現して、アネルギーや免疫寛容を引き起こす。腫瘍関連マクロファージは、ナチュラルキラー細胞と細胞傷害性 T リンパ球の活性を阻害する免疫抑制因子とサイトカインを分泌する。がん細胞と宿主の間質細胞 (線維芽細胞、血管及びリンパ内皮細胞など) は、TGF-β、チェックポイントリガンド、FasL を発現するため、T 細胞のアポトーシスを直接引き起こす。