

●■第XV章 免疫学的検査・予防・治療 225

- XV-1) 感染症の診断と抗体測定 226
- XV-2) 血液型と同種赤血球凝集反応 228
- XV-3) リンパ球刺激試験 230
- XV-4) 人工抗体 232
- XV-5) イムノアドヘシンと免疫疾患の治療 234
- XV-6) 癌のミサイル療法 236
- XV-7) 感染防御機構とワクチン 238
- XV-8) アジュバント 240
- XV-9) 癌ペプチドワクチン 242
- XV-10) 免疫グロブリン大量療法 244
- XV-11) 腫瘍の免疫チェックポイント阻害療法 246
- XV-12) キメラ抗原レセプター (CAR) 遺伝子導入T細胞による腫瘍の治療 248

索引 250

- 免疫学的な検査、予防治療などでの基本は、単クローン性抗体が理想的である。1個の抗体産生細胞を増殖させてつくった細胞集団（クローン）のつくる抗体である。どの細胞も同一の抗体をつくることから、均質な抗体が得られるからである。応用は、様々な物質の量や抗体量を測定するイムノアッセイと悪性疾患の治療に使う抗体である。どちらも特定の抗原とのみ反応する特異性の高いものである必要があるからである。
- またアレルギーや自己免疫疾患の治療、移植拒絶反応の予防の目的で、病態に関わるサイトカインとそのレセプターとの反応を遮断することが行われる。これには、サイトカインあるいはレセプターに対する抗体を用いる、レセプターを可溶化したものを投与しサイトカインを遮断するなど、後者では、半減期を長くするためIgGのFc部分を結合させておくことが行われる。このような分子をイムノアドヘシンという。
- 感染防御の免疫機構は病原体の種類によって異なるので、ワクチンは防御の主体となっている免疫応答を誘導する必要がある。免疫応答を増強するため不活化ワクチンに添加するアジュバントも、そうした免疫応答を増強することが求められる。
- 今回の感染の病原体を同定したいという目的のためには、感染前から存在した既往の抗体なのか、今回産生された抗体なのかを区別する必要がある。
- 新しい感染ならばペア血清では、回復期の血清のほうが急性期の血清より高い価が得られる。
- あるいは、風疹の赤血球凝集阻止反応 (HI) による抗体は比較的早くから出

現するが、受身凝集反応（PHA）による抗体は遅れて上昇してくる。したがって前者が後者よりかなり高い場合には、最近感染があったことを示唆する。

- 梅毒では、カルジオリピン-レシチンという交差反応人工抗原を用いた補体結合反応（Wassermann 反応），STS（serological test for syphilis）などと、トレポネーマ自身の抗原を検出する受 TPHA（*Treponema pallidum* hemagglutination）／TPLA（*Treponema latex* agglutination），FTA-ABS）などがあり、前者は感染早期から検出されるが、治癒すると消失する。後者の方法では陽性になるのが遅いが、トレポネーマ駆除後も検出される。両方の結果を組み合わせると、未感染か感染初期か感染中か治癒後かを推定できる。なお、妊娠，エリテマトーデスでも陽性となる生物学的偽陽性反応がみられる。

- 血液型：同じ種属に属していやても個体ごとに異なった抗原が存在するが、それを同種抗原という。赤血球の同種抗原を血液型という。

- 血液型物質のうち，A，B，M，N，Lewis 型は糖質抗原で，Rh，Kell，Duffy は蛋白抗原である。前者に対してつくられる抗体は主に IgM クラスであり，低温で反応する冷式抗体と体温で反応する温式抗体とがある。後者の抗体は主に IgG クラスで，温式抗体であり，輸血などでの抗原侵入で作られる免疫抗体である。

- 自然抗体は、自分にはない抗原に対しては、輸血を受けなくても細菌に交差反応した抗体（自然抗体）を持っている。→A 型の人には抗 B 抗体を，B 型の人には抗 A 抗体を，O 型の人には抗 A，抗 B 抗体。

- ABO 型については、必ず自分にはない血液型に対する抗体が存在し、その抗体を規則抗体というが、M，N，A 型亜型，Rh については抗体を持つ人と持たない人とがある。そのようなものを不規則抗体という。

- 規則抗体の ABO では、被験赤血球に知りたい血液型に対する抗体を反応させ、赤血球凝集の有無をみる事が行われる。これをオモテ試験という。

- ヒトが、白血病や細菌感染の結果、ある抗体を持つかは、血液型が既知の赤血球に被験血清を加えて凝集反応が起きるかどうかを調べる。これをウラ試験という。

- 生理食塩水で凝集反応を起こせる抗体を完全抗体、できない抗体を不完全抗体という。ABO 型

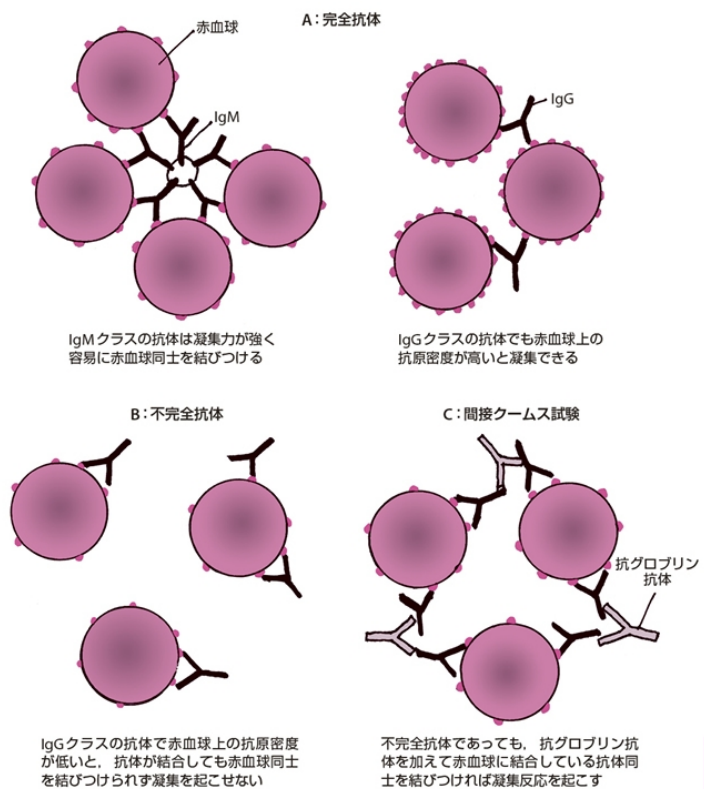


図1 同種抗体による赤血球の凝集

は、抗体が凝集力の強いIgMであること、赤血球表面の抗原密度が高いのでIgGでも凝集できることから完全抗体である。Rh型は抗体がIgG（抗原結合部が2箇所）であること、赤血球上の抗原密度が低いから不完全抗体となる。

- 不完全抗体が予想される場合には、赤血球に抗体を反応させたのち、さらにグロブリンに対する抗体を加える間接クームス試験を行う。
- アレルギーはIgEクラスの抗体が関与するものが多いが、アレルゲンに対するT細胞の反応を原因とする遅延型アレルギーもある。遅延型アレルギーが疑われる場合、皮膚パッチ試験のほか、培養リンパ球にアレルゲンを加えてリンパ球が増殖反応を起こすかどうかをみるが行われこれをアレルゲン特異的リンパ球刺激試験（allergen-specific lymphocyte stimulation test；ALST）という。
- また薬剤がアレルゲンの場合にはDSLIT（drug-stimulated lymphocyte test）という。食物アレルギーでも、新生児乳児消化管アレルギー（food protein-induced enterocolitis syndrome）も同様と考えられ、これらアレルゲンの同定にリンパ球刺激試験が用いられる（図1）。
- 臓器移植においては、ドナー・レシピエント間の組織適合性の一致が重要である。特にT細胞の反応のきっかけとなるCD4⁺T細胞の反応がないことが求められる。->ドナーのリンパ球とレシピエントのリンパ球を混合して培養し、リンパ球が増殖反応を起こすかどうかを調べることで知ることができる。これを混合リンパ球反応（mixed lymphocyte reaction；MLR）という。
- 人工抗体：1個のB細胞は1種類の抗体しかつくり出さない。1個のB細胞を増殖させてつくった細胞集団は、すべて同じ性質の均質な細胞集団であり、クローンと呼ばれる。すべての細胞が同一の抗体をつくる。このような抗体を単クローン性抗体（monoclonal antibody）という。しかしながら正常なB細胞の細胞分裂回数は限られていて、クローンを形成する細胞の数はわずかにとどまり、十分な単クローン性抗体を得ることができないので、図のようにB細胞と形質細胞腫細胞とを融合させた混血細胞ハイブリドーマ（hybridoma）をつくるのが考案された。

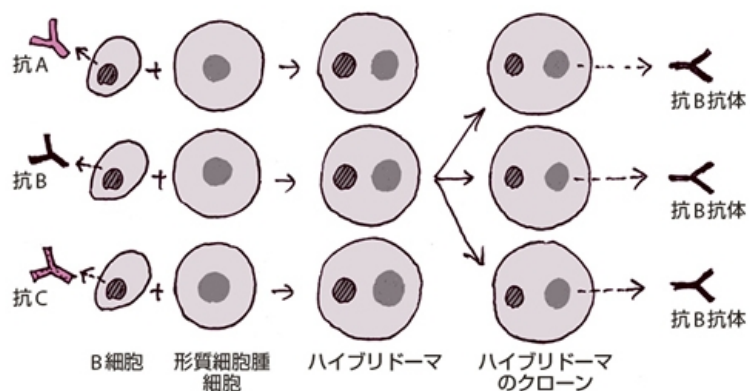


図1 単クローン性抗体の作製

いままではキメラ抗体のみならず

様々な人工抗体が作られている。

- 免疫応答においては、免疫担当細胞同士が表面分子同士で反応することや、サイトカインを産生して相手の細胞のレセプターに作用させることなどが行われる。

自己免疫疾患やアレルギー、移植拒絶反応など免疫応答が関与している病態に対して、上記の相互作用を遮断することにより症状を緩和することが行われる。

- その目的で、遺伝子工学により可溶化分子を IgG の Fc 部に結合させたものが用いられる。これをイムノアドヘシン (immunoadhesin) といい、半減期が長くなるよう改良されている。さまざまなイムノアドヘシンがすでにつくられ、改変した標的分子として、関節リウマチ、各種アレルギーなどの治療に使用されている。

- 例えば、TNF- α は炎症を惹起するサイトカインであり、多くの炎症性疾患の病態に関わっている。TNF レセプターのイムノアドヘシンは TNF- α の作用を遮断するので、関節リウマチの治療に用いられている。

- 単クローン性抗体をつくる技術が開発され、特定の抗原決定基 (エピトープ) とのみ特異的に反応する抗体を大量に入手できるようになった。その中で癌細胞に比較的選択的に反応するような抗体を投与すれば、それは癌細胞に結合し、抗体の結合

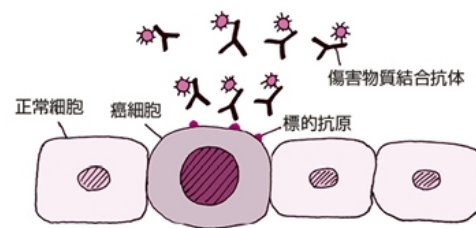


図1 癌のミサイル療法

抗体は細胞傷害物質を癌細胞に集中的に作用させる

を受けた細胞が補体や K 細胞 (Fc γ レセプターを持つ NK 細胞)、マクロファージにより傷害されることが期待できる (表 1)。

- 以上のように、癌細胞を直接傷害する目的ばかりでなく、癌細胞を増殖させるサイトカイン EGF (epidermal growth factor) の作用を遮断する抗 EGF レセプター抗体を用いたり、腫瘍を還流する血管を新生させる VEGF (vascular endothelial growth factor) や M-CSF (monocyte colony-stimulating factor) を阻害する抗 VEGF 抗体、抗 M-CSF 抗体を用いることもある。

- また RANKL は破骨細胞を活性化し骨を破壊して癌細胞の骨転移を助けているが、抗 RANKL 抗体でそれを防ぐことも考えられている。

- 異なった抗原に対する 2 種の抗体の Fab (抗原結合部) 同士を組み合わせた二重特異性抗体も治療に用いられる。(追加) さらに岡山大学では、テロメライン治療が山口大学では prime-CAR-T cell 治療 (最後のメモ参照) がすすめられている。

- 二重特異性抗体ではないが、癌細胞に対する抗体にスーパー抗原を結合させたものは、スーパー抗原が特定の T 細胞レセプターファミリーに結合することから、T 細胞を癌細胞に導き攻撃させることができる。

- ジフテリアや破傷風は細菌が外毒素を産生して起こす病気であり、その防御には外毒素に結合してそれを中和する抗体が重要である。したがって外毒素に対する中和抗体をつくらせるため、外毒素を無害化したトキシイドがワクチンとして用いられる。

- 一般細菌は主に好中球による食菌・殺菌作用によって処理される。肺炎球菌

やインフルエンザ桿菌は、表面に莢膜を持っていて好中球の食菌作用に抵抗性である。もし細菌に抗体が結合すると、好中球はIgGのFc部に対するレセプターを持っているため、それで細菌に結合しているIgGをとらえることで、間接的に細菌をとらえて食菌できるようになる。そこで細菌表面の多糖体をワクチンとして、それに対するオプソニン抗体（食作用促進抗体）をつくらせることが重要になる。

- 結核菌、サルモネラ、リステリアなどは、食細胞にとらえられても殺菌の行われる食胞から細胞質へと逃れ、生存し増殖する能力を持っている。そのような細胞内寄生性細菌に対抗するには、マクロファージを活性化してオートファジーにより細菌をリソソームへと運んだり、殺菌物質（酸化窒素およびその中間代謝物NOI、活性酸素ROSなど）の生成を盛んにする必要がある。
- マクロファージはTLRなどで細菌物質に反応することでも活性化されるが、細胞質の細菌の場合、TLRは細胞膜やエンドソーム膜に存在しているため作用しない。獲得免疫系でマクロファージを主に活性化するのは、Th1細胞の産生するインターフェロン γ (IFN- γ) である。
- ウイルスの中でもエンテロウイルス（ポリオなど）、アルボウイルス（日本脳炎、デング熱）の場合、増殖すると宿主細胞を破壊して一斉に遊出し新しい宿主細胞に感染していく細胞融解型ウイルスであることから、その増殖阻止には遊出ウイルスを中和する抗体が有効である（図1A）。したがって防御には、細胞への感染前のウイルスや遊出ウイルスに対する中和抗体をつくらせることで目的を達せる。それには不活化ワクチンでも有効である。
- 一方、一般のウイルスは増殖しても宿主細胞をそのままにし、1つずつ出芽し隣接する細胞に感染していくという増殖様式を持つ。細胞内のウイルスには抗体は作用できない。そのため感染細胞自体を破壊し、ウイルスの増殖母体を失わせる必要がある。これには細胞傷害性T細胞（CD8⁺T細胞）が働く。細胞傷害性T細胞は細胞内で生成された抗原に反応するため、ウイルス抗原を細胞内で生成させる生ワクチンかDNAワクチンが望ましい。なお、細胞に感染する前のウイルスならば抗体も有効である。
- 粘膜免疫系は独立して働くことから、粘膜での病原体の侵入阻止・増殖阻止には粘膜を経由して働かせる粘膜ワクチンが必要である。産生された分泌型IgAは病原体の侵入を阻止する。
- 抗原単独では誘導できる免疫応答が不十分な場合、抗原に付加することで免疫応答を増強できるような物質をアジュバント（adjuvant）という。抗原提示細胞（樹状細胞など）が抗原を取り込みやすい型にしたり、抗原提示細胞を活性化してMHC分子や共刺激分子の表出を高め抗原提示能を増強させたり、サイトカインを産生させて抗原と反応したT細胞の生存を支持させたりする（表1）。不活化ワクチンに応用されている。

・ マイコバクテリア死菌を混入させた完全 Freund アジュバントは、菌のトレハロースによって mincle, ペプチドグリカンによって NLR という

表 1 アジュバントと誘導される免疫応答

アジュバント	樹状細胞の反応分子	産生サイトカインなど	誘導されるT細胞など
水酸化アルミニウム	NLRP3	IL-18・PGE ₂	Th2細胞
リビドA	TLR4	IL-12	Th1細胞
DNA-CpG	TLR9	IL-12	Th1細胞・Tc細胞
dsRNA・Poly(I:C)	TLR3	IFN-I	Th1細胞
ssRNA・イミダゾキノリン	TLR7・RIG-I	IFN-I・IL-12	Th1細胞・Tc細胞
トレハロース	B細胞のTLR7		B細胞
mincle, ペプチドグリカン			
βグルカン	dectin-1	IL-6	Th17細胞
コレラ毒素	ガングリオシド		Th2細胞
αガラクトシルセラミド	NKT細胞のTCR	IFN-γ	Th1細胞・Tc細胞

IFN-I : I型インターフェロン, Tc細胞:細胞傷害性T細胞

パターン認識レセプターを刺激して、抗原提示細胞に Th1 細胞, Th17 細胞を誘導させ、細胞性免疫を増強する。

・ ウイルス蛋白を集合させた粒子 VLP (virus-like particle) , サポニン・コレステロール・リン脂質に抗原を加えて作った粒子 ISCOM (immunostimulating complex) や、リン脂質人工小胞 (リポソーム) に抗原を組み込んだものも、抗原への反応を増強する。脂質スクアレン (squalene) 中に水溶性抗原を懸濁化した MF59, ASO3, CAFO1 などは、Th1 細胞, Th17 細胞の反応, 抗体産生をよく導く。癌にもワクチン: 癌細胞に対して免疫応答が起きることは、様々な形で証明されてきている。生体内ではかなりの頻度で腫瘍化細胞が発生するものの、その多くは免疫学的監視機構 (immunological surveillance) が早期に働いて、それを排除し、発症に至らないようにしているという概念。その目をかいくぐって癌が発症するのは癌排除のための免疫機構のバランスが癌ドミナントになっているとき、逆転させる方法の1つが、癌ペプチドワクチン療法である。

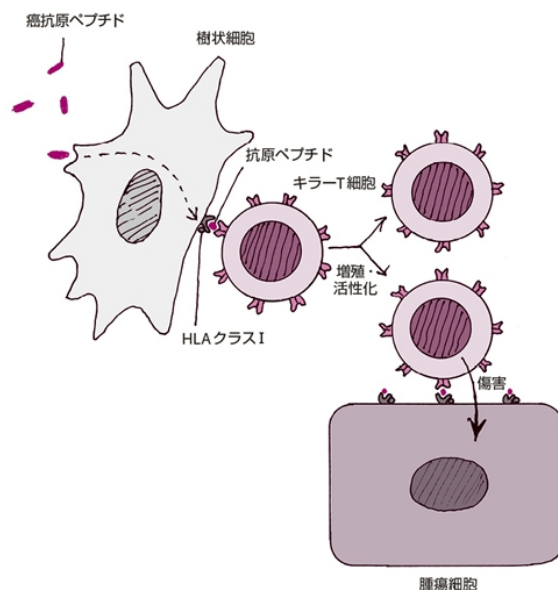


図 1 癌ペプチドワクチン療法の作用機序

当の患者にとって適切と考えられる腫瘍の抗原ペプチドを注射するか、樹状細胞に付加して注入すると、樹状細胞が提示するその抗原に細胞傷害性T細胞(キラーT細胞)が反応し活性化されて腫瘍細胞を攻撃する

- 実際ワクチンとして用いられているものには、悪性黒色腫などの腫瘍と正常精巢とに発現している cancer-testis (CT) 抗原 (MAGE-3 など), 悪性黒色腫とメラニン細胞とに発現している分化抗原 (Melan-A, チロシナーゼなど), 乳癌, 胃癌などで過剰に発現している抗原 (増殖因子のレセプターである ErbB2 など), 腫瘍で増加している転写因子 (増殖因子の遺伝子発現を制御する WT-1 など) がある。

- 特発性 (免疫性) 血小板減少性紫斑病に免疫グロブリン製剤 (主成分は IgG) を大量に注射すると血小板数が回復することが経験的に知られ, その後この治療法はギラン・バレー症候群, 川崎病, 1 型糖尿病, 関節リウマチ, その他の自己免疫病にも応用されている。この治療法がいかにして病的抗体の作用を阻止し, 炎症反応を抑えるのかについて様々な機序が想定されている。

- その一つとして抗体の結合を受けた血小板は, 脾などのマクロファージに

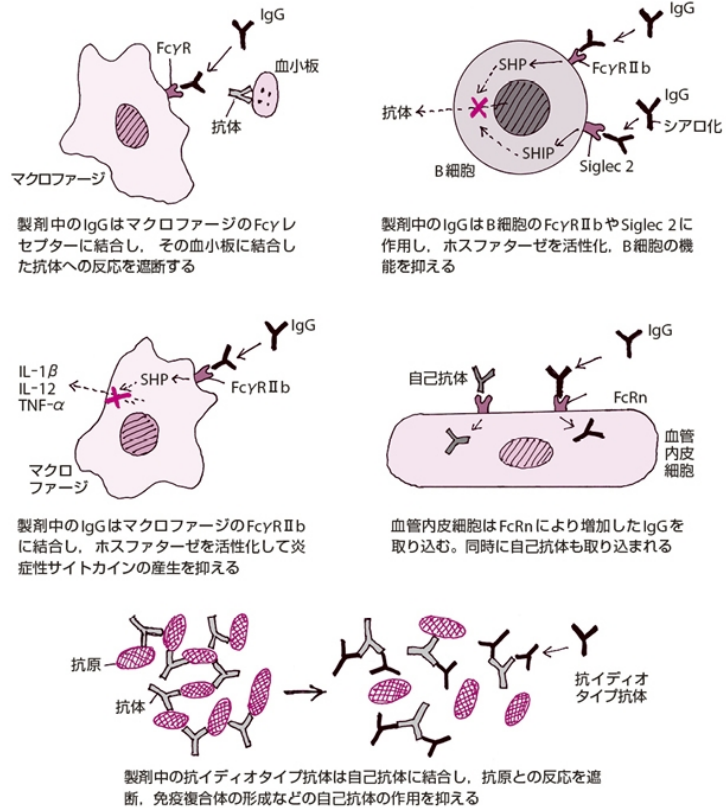


図 1 免疫グロブリン大量療法的作用機序

よってとらえられ破壊される。これには, マクロファージが Fcγ レセプターによって血小板に結合している抗体の Fc 部をとらえることが関与している。大量の IgG が注射されると, その Fcγ レセプターに IgG が結合することによってレセプターが飽和され, 血小板をとらえることができなくなると考えられる。

- また, B 細胞が活性化されると, バランスが崩れるとき, 下図のように, SHP による脱リン酸化の機構があるので, IgG を大量に注射すると, その IgG が FcγR b に作用して B 細胞の活性化を抑えられると考えられている。

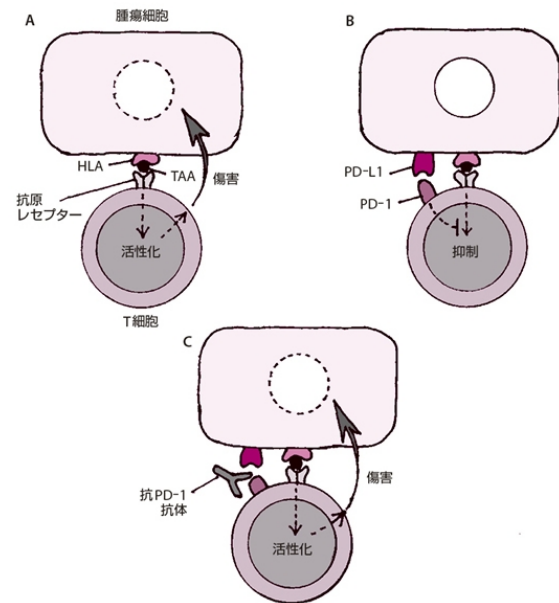


図 1 抗 PD-1 抗体による T 細胞の抗腫瘍作用の回復

T 細胞は抗原レセプターで腫瘍細胞上の腫瘍関連抗原 (TAA) に反応し活性化されて腫瘍を傷害する (A)。そこで, 腫瘍細胞は PD-L1 を表出し, 活性化 T 細胞が表出する PD-1 に作用させ, T 細胞の活性化を抑え, 傷害作用を逃れる (B)。抗体を投与し PD-1 を遮断すると, T 細胞は抑制作用から解放されて腫瘍を傷害する (C)。

- また抗体が産生されるとその抗体の抗原結合部（イデオタイプ）に対する抗体（抗イデオタイプ抗体）がつくられ、前の抗体を抑制するという負のフィードバックが働くと考えられている。健康人では自己抗体に対する抗イデオタイプ抗体が増加していると予想されるため、IgG 製剤の注射により自己抗体が制御されることが考えられる。
- つぎに抗腫瘍作用を持つ T 細胞が存在するにもかかわらず、そうした分子同士の相互作用により T 細胞が働かないのではないかとの発想で、たとえば PD-1, PD-L1, CTLA-4 に対する抗体などを用いて行うのが免疫チェックポイント阻害薬（抗体）治療である。他の治療に抵抗性の症例にも有効である。
- 前述もしたが、腫瘍細胞を攻撃する免疫細胞には NK 細胞, NKT 細胞, マクロファージなどさまざまなものがあるが、中心となるのは腫瘍関連抗原（tumor associated antigen ; TAA）に対する T 細胞である。リンパ球を採取し、IL-2 で増殖させ活性化して注入する方法で LAK（lymphokine activated killer）養子免疫療法というが、効率が悪いので iPS 細胞を使い、TAA 特異的 T 細胞を一度 iPS 細胞に逆分化させると iPS 細胞はよく増殖し、多量に得られる。その後再び T 細胞に分化させると、その T 細胞レセプター〔抗原レセプター（T cell receptor ; TCR）〕遺伝子はそのままなので、TAA に特異的な T 細胞が数多く入手できる。また、こうすると元の T 細胞がたとえアネルギー状態（不応状態）にあっても、それから回復している。
- T 細胞レセプターは抗原とその個体の HLA 分子との組み合わせに反応するので、特定の個体から得られた T 細胞の TAA 特異 T 細胞レセプターは、同一の HLA

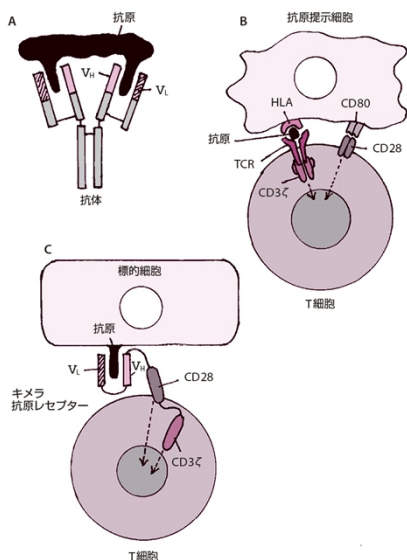


図1 キメラ抗原レセプター遺伝子導入T細胞

抗体はL鎖の可変領域(V_L)とH鎖の可変領域(V_H)とで抗原に反応する(A)。T細胞はT細胞レセプター(TCR)で抗原提示細胞上のHLAと結合した抗原に反応しCD3分子を介し細胞内にシグナルを伝える。活性化にはCD28でCD80と反応する共刺激も必要である(B)。V_L、V_H、CD8、CD3ζをつなげた遺伝子を導入したT細胞はV_L・V_Hで抗原と反応し、CD3ζを介して細胞内にシグナルを伝え、CD28で共刺激を得て活性化される(C)。

を持つ個体の腫瘍細胞にしか反応しないことになり、せっかく作成した T 細胞レセプター遺伝子であっても個体ごとに多様性があるので普遍性が低い。

- そこで TAA 特異抗体を抗原レセプターとすることが考えられたが、T 細胞を活性化するには抗原と反応したことが CD3 分子を介して細胞内に伝えられる必要がある。また活性化には共刺激も求められる。->抗体の TAA 結合部（可変領域/V 領域）について L 鎖のもの（V_L），H 鎖のもの（V_H），そして CD3ζ のそれぞれの遺伝子を連結したものの〔キメラ抗原レセプター（chimeric antigen receptor ; CAR）〕を T 細胞に導入することが考えられた（図1）。