

論文の内容の要旨

応用動物科学専攻

平成 11 年度博士課程進学

氏 名 中江 進
指導教官 岩倉洋一郎

論文題目 免疫応答の調節機構における炎症性サイトカインの
役割：遺伝子欠損マウスを用いた解析

炎症反応は細菌などの感染源の除去や外傷による損傷組織の修復に必要であり、免疫系の活性化を伴う生体が持つ防御機構の一つである。炎症誘発物質の一つであるサイトカイン、中でも interleukin-1 (IL-1) や tumor necrosis factor α (TNF α) は炎症の誘導過程で様々な作用を示し、炎症性サイトカインと呼ばれている。

IL-1 や TNF α は急性炎症時における発熱誘導因子という位置付けだけでなく、免疫細胞の活性化にも大きく関与することが知られている。IL-1 欠損マウスや TNF α 欠損マウスの作製が 1990 年代に相次いで報告され、細菌感染に対する抵抗性などの急性炎症応答におけるそれらサイトカインの役割が明らかにされたが、慢性炎症応答に見られるような炎症に伴う免疫応答の活性化の分子機構については未解な部分が多い。IL-1 には異なる遺伝子からなる IL-1 α と IL-1 β が存在し、また、IL-1 と TNF α は互いに重複した作用を持つ。炎症及び免疫応答における IL-1 α 、IL-1 β そして TNF α の個々の機能についてもさることながらこれら 3 つの分子の役割の違いについてはそれぞれの遺伝子欠損マウスから得られた知見だけでは十分な理解が得られていないのが現状である。また、近年、IL-

1 や TNF α と類似の作用を有するサイトカイン IL-17 の登場で、それらサイトカインによる炎症及び免疫応答の惹起の分子機構がより複雑になってきている。

そこで本研究では、免疫応答の調節機構における個々の炎症性サイトカインの役割とそれらサイトカインの協調的作用によって誘導されると期待される免疫応答の活性化を伴う炎症応答の分子機構を理解するために、1) 炎症性サイトカイン IL-1 による免疫担当細胞の活性化の分子機構について、2) 炎症性免疫応答における IL-1 と TNF α の役割について、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1 α/β 、IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1Ra)、TNF α 及び IL-1 α/β xTNF α 欠損マウスを利用して明らかにした。また、3) IL-17 欠損マウスの新規作製及び免疫応答における IL-17 の役割について評価を行った。これら欠損マウスを用いた種々の解析結果から IL-1 α 、IL-1 β 、TNF α 及び IL-17 によって繰り広げられる外来抗原に対する生体防御の分子機構について考察を行った。

1) IL-1 による抗原特異的な T 細胞及び B 細胞の活性化の分子機構について
IL-1 は古くからリンパ球活性化因子として知られ、T 細胞のマイトジェン刺激に対する増殖応答を増強したり、*in vivo* 投与により外来抗原に対する B 細胞の抗体産生を増強する作用があることが知られている。しかしながら、その分子機構についてはまったく明確になっていない。IL-1 α/β 欠損マウスは外来抗原に対する抗体産生の障害を認めるが、IL-1 の欠損は B 細胞のマイトジェンに対する抗体産生能や増殖応答、T 細胞のマイトジェンに対する増殖応答やサイトカイン産生能、抗原提示細胞の貪食能、抗原プロセッシングや提示能といった個々の免疫担当細胞の基本的な機能には影響を及さなかった。すなわち、IL-1 α/β 欠損マウスでの抗体産生能の低下はそれら個々の免疫担当細胞の単独の機能に起因するものではないことが示唆された。一方、抗原提示細胞と T 細胞、T 細胞と B 細胞との細胞間相互作用を介した抗原特異的な T 細胞及び B 細胞の機能が IL-1 α/β 欠損マウスでは障害されていることが明らかになった。抗原提示細胞の抗原/MHCII 複合体と T 細胞上の T 細胞レセプターの相互作用により T 細胞上に IL-1 レセプター (IL-1R) の発現が誘導され、また、抗原提示細胞から産生された IL-1 が T 細胞上の IL-1R を介して CD80/CD86-CD28 シグナルとは非依存的に抗原特異的な T 細胞の活性化を誘導し、その T 細胞上に CD40 リガンド (CD40L, CD154) や OX40 (CD134) の発現を誘導することにより、引き続き B 細胞上の CD40 を介して抗原特異的な B 細胞の抗体産生応答を増強する分子機構が初めて明らかになった。

2) 接触型過敏症応答における IL-1 α 、IL-1 β 及び TNF α の役割の違いについて

アクセサリーによる金属アレルギーや漆による皮膚のかぶれなどに代表される接触型過敏症応答 (CHS) は T 細胞によって引き起こされる皮膚を介した炎症性の免疫応答の一つである。1990 年代初頭の解析では、CHS の初期応答において、ランゲルハンス細胞 (LC) が IL-1 β を、ケラチノサイト (KC) が IL-1 α と TNF α を産生することが知られており、また、それらの中和抗体投与の解析から CHS の発症にそれらサイトカインの関与が示唆されていた。事実、TNFR 欠損マウスでは oxazolone による CHS は抑制されることが示された。一方、IL-1 β 欠損マウスでは oxazolone と高濃度の 2, 4, 6-トリニトロクロロベンゼン (TNCB) による CHS は正常に誘導されるが、低濃度の TNCB でのみ抑制されることが報告された。これら欠損マウスの結果からも TNF α と IL-1 β が CHS の発症に何らかの役割を演じていることは明白であるが、IL-1 α の役割や類似の作用を示すそれら 3つのサイトカインの特異的あるいは相補的な作用の明確な区分については全く理解されていない。

高濃度 TNCB 感作による CHS の発症は、IL-1 β 欠損マウスではすでに報告があるように野生型マウスと同レベルの誘導が見られるのに対し、IL-1 α 欠損マウスと IL-1 α / β 欠損マウスは同程度の抑制を認めた。CHS の発症において、皮膚から従属リンパ節へ移動した成熟 LC が IL-1 α を産生し、その IL-1 α がハプテン特異的な T 細胞の活性化に必要であることが明らかになった。一方、IL-1 β はハプテン特異的な T 細胞の活性化よりもむしろハプテン特異的な抗体産生応答の促進に深く関わり、CHS で惹起される免疫応答において IL-1 α と IL-1 β の作用に大きな特異性があることが明らかになった。また、TNF α 欠損マウスも IL-1 α / β 欠損マウスと同程度の CHS の発症の抑制を認めた。しかしながら、TNF α 欠損マウスは IL-1 α / β 欠損マウスと異なり、ハプテン特異的な T 細胞の活性化は正常に誘導され、IL-1 の作用とは異なる TNF α による CHS 誘導の分子機構が存在することが示唆された。IL-1 はアレルゲン感作時のハプテン特異的な T 細胞の活性化だけでなく、再感作時の皮膚局所での TNF α の産生に必要で、局所で産生された TNF α は炎症性免疫担当細胞の局所への浸潤に関わる接着分子やケモカインの誘導に大きく寄与していることが明らかになった。中でも、TNF α は皮膚の細胞に直接的に作用して活性化 T 細胞の浸潤に重要な役割をもつ Interferon- γ (IFN- γ) -inducible protein 10 kDa (IP-10) の発現を IFN- γ の作用とは非依存的に亢進させることにより、CHS における慢性炎症応答の誘導に関わ

ることが明らかになった。

3) IL-17 欠損マウスの作製と T 細胞依存性免疫応答における IL-17 の役割

IL-17 は 1993 年に cytotoxic T lymphocyte associated antigen-8 として T 細胞のサブトラクション cDNA ライブラリーからクローニングされ、*Herpesvirus saimiri* の open reading frame 13 にコードされるアミノ酸と相同性が高い糖タンパク質である。IL-17 は活性化及び記憶 CD4 陽性 T 細胞に限局して発現し、T 細胞の活性化に関わるリンパ球活性化因子として、また、マクロファージや上皮系及び内皮系細胞に作用して IL-1 や TNF α といった炎症性サイトカインの他、ケモカイン、プロスタグランジンや一酸化窒素といった炎症性メディエーターの産生を誘導する炎症性サイトカインとして位置付けられている。In vitro 培養系での解析では、IL-17 は IL-1 や TNF α と良く似た作用を示し、事実、IL-1 と IL-17 の細胞内シグナルは同一の因子 tumor necrosis factor-associated factor 6 (TRAF6) によって伝達されることが知られている。また、健常人では認められないが、関節リウマチ患者の滑膜液中や喘息患者の血中に IL-17 が高濃度で検出されることが知られており、ヒト慢性疾患の発症との関わりが示唆されているが、生体内での IL-17 の役割については良く分かっていない。そこで、本研究では、IL-17 欠損マウスを作製し、IL-17 産生細胞である T 細胞に依存した免疫応答における生体内での IL-17 の役割を解析した。IL-17 欠損マウスは CHS、遅延型過敏症 (DTH)、気道過敏症 (AHR) 応答といったアレルゲン特異的な免疫応答が低下していることがわかった。IL-17 はアレルゲン特異的な T 細胞の活性化に必須であるだけでなく、B 細胞による抗体産生にも重要な役割をもっていることが初めて明らかになった。一方、移植片対宿主応答 (GVHR) に見られるような移植細胞による宿主アロ抗原に対する細胞障害において、移植細胞側の IL-17 の欠損はアロ抗原特異的な細胞障害には影響を及ぼさないことがわかった。関節炎、脳脊髄炎、大腸炎や自己免疫性糖尿病といった自己免疫疾患の発症との関わりについては現在調査中である。また、近年、IL-17 は IFN- γ を産生する Th1 細胞や IL-4 を産生する Th2 細胞といったものでは発現しておらず、特殊な CD4 陽性 T 細胞で産生され、また、TNF α を共発現していることが知られている。種々の免疫応答において IL-17、TNF α 及び IL-1 との特異性や相補性を明らかにするために、現在、IL-17xTNF α 、IL-1xIL-17 及び IL-1xIL-17xTNF α 欠損マウスの作製を手掛けており、これらを用いてさらなる解析を進める予定である。