

# 論文の内容の要旨

応用動物科学専攻

平成 13 年度博士課程進学

氏名 松木 大造  
指導教官 岩倉 洋一郎

論文題目：

Roles of the IL-1/IL-1 Receptor Antagonist System in the Homeostasis of the Body  
(生体の恒常性維持における IL-1/IL-1Ra システムの役割)

炎症性サイトカイン Interleukin-1 (IL-1)は、感染などの際、免疫系を活性化し、炎症を誘導することによって生体防御に関わる生体内因子である。IL-1 は、他の炎症性サイトカインや細胞遊走因子ケモカインの産生誘導を介した免疫細胞の活性化や浸潤、血管拡張、種々の細胞接着分子の発現誘導などといった生理作用を示す。一方、IL-1 は免疫系に留まらず、ストレス応答、生殖機能、摂食・飲水行動、睡眠などの神経-内分泌連関係を介した日常の生理作用にも関わる多機能な因子であることが分かってきた。このように IL-1 は、神経-内分泌系間の相互作用を修飾するサイトカインの一つとしても見なされており、免疫・神経・内分泌系にわたるその多様な生理作用を介して生体の恒常性の維持に重要な働きを担っていると考えられている。

多様な IL-1 の生理活性は、異なる遺伝子からなる IL-1 $\alpha$ 及び IL-1 $\beta$ が共通の IL-1 受容体、IL-1R type I に結合することによって誘導される。また、この IL-1 $\alpha/\beta$ による生理作用は、それらと受容体を競合して結合を阻止する IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra)や、シグナルを伝達しないと考えられている IL-1R type II などの様々な調節分子によって制御を受けている (IL-1/IL-1Ra システム：figure 1)。

1990 年代に相次いで IL-1 関連遺伝子欠損マウスの作製が報告された結果、これまで IL-1 の寄与が示されていた細菌感染などの急性炎症応答におけるその役割が明確にされただけでなく、炎症誘導時の発熱や中枢神経系を介したストレス応答においても IL-1 が非常に重要な役割をもつ

ことが初めて明らかにされた。さらに、IL-1 のシグナルを阻害する IL-1Ra 遺伝子の欠損マウスにおいては、慢性関節炎を自然発症するなど、過剰な IL-1 シグナルが入る、或いは入りやすくなることにより、様々な異常を示すことが明らかとなった。しかしながら、従来の IL-1 関連遺伝子欠損マウスを用いた解析は、主として炎症反応や免疫疾患に注目した解析系が中心であり、生体の維持そのものにおける IL-1 システムの役割に注目した、より生理的な環境下での綿密な解析はほとんど行われておらず、生体の恒常性の維持機構に関する IL-1 の作用の詳細な報告がないのが現状である。また、IL-1/IL-1Ra システムの破綻が関節炎をはじめとする自己免疫性疾患の発症に深く関わるのが IL-1Ra 遺伝子欠損マウスの作製により明らかにされたが、その発症機構については未だ完全には理解されていない。そこで、本研究では、IL-1 関連遺伝子欠損マウスを用いて、生体の恒常性の維持における IL-1/IL-1Ra システムの役割及びその破綻によって発症する自己免疫性疾患の分子機構を明らかにすることを目的とし、1) エネルギー代謝・脂質代謝、2) 自然発症性動脈炎症、及び 3) 実験的自己免疫性脳脊髄炎、における IL-1/IL-1Ra システムの役割について解析を行った。

## Chapter I. The Roles of IL-1/IL-1Ra System in Lipid and Energy Homeostasis

古くから IL-1 には摂食抑制作用があることが知られており、感染時などに見られる食欲低下は炎症に伴い誘導された IL-1 の作用が原因であると考えられている。一方、定常状態においても過剰な IL-1 の作用が反映される IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは、炎症の有無に関わらず、成長に伴う体重の差（5～6 週齢以降）に相関して、食餌量が低下しており、野生型マウスに比べて 20 週齢時で約 15%の体重低下を示す。しかしながら、体重当たりの食餌量の比は野生型及び IL-1Ra 遺伝子欠損マウスで変わらないことから、食欲に関わる神経系の変化による影響ではないことが考えられた。実際に、摂食制御に関わる視床下部ホルモンの発現、及び絶食・再食応答を検討したが、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスと野生型マウスの間に目立った違いは見られなかった。また、制限食下においても IL-1Ra 遺伝子欠損マウスの体重は野生型よりも低く維持されていた。以上の結果から、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスの成長停滞は食欲の低下によるのではなく、エネルギー維持機構の低下が原因であることが示唆された。そこで、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスのエネルギー消費を検討したが、熱産生（体温）、呼吸消費量とも顕著な違いがなかったことから、エネルギー消費の亢進による体重低下ではないことが示唆された。また、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは、著しい脂肪組織の萎縮を呈することを見出した。そこで、等カロリー高脂肪食負荷により、脂肪蓄積を検討した結果、野生型マウスでの高脂肪食群では、普通食群に比べ体重の変化は見られないが、脂肪組織の増大が認められた。それに対し、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは、高脂肪食摂餌により血中中性脂肪の含有量が野生型マウスと同程度まで改善するにも関わらず、脂肪蓄積の増大は全く認められなかった。このことから、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは血中から組織への脂肪取り込みの障害が起こっていることが示唆された。

さらに、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは、低インスリン血症、再食応答時のインスリンレベルの上昇障害が見られた。これは、インスリン産生の低下、糖取り込み作用の感受性亢進といったインスリン代謝の異常によることが分かり、さらに IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは、インスリンによる脂肪蓄積作用を触媒する酵素であるリポタンパクリパーゼの活性が低下していることがわかった。以上のことから、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスのインスリン産生障害が、リポプロテインリパーゼを介する脂肪蓄積作用の低下を導き、その結果として体重維持の低下が起こっていることが示唆され、生体の恒常性の維持に不可欠なエネルギー代謝機構の制御に IL-1/IL-1Ra システムが深く関与することが明らかになった。

## Chapter II. The Roles of IL-1/IL-1Ra System in Chronic Aortitis

BALB/c 背景の IL-1Ra 遺伝子欠損マウスは、自己免疫性関節炎の他、動脈炎や皮膚炎も自然発症するが、その発症及び病態形成の分子機構は明らかにされていない。そこで、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスにおける動脈炎発症機構の解明を目的として、この動脈炎が関節炎と同様に T 細胞性の自己免疫性疾患であるのかどうか、また、IL-1 による他の炎症性サイトカインの誘導を介した局所的な炎症反応による組織障害によるものかどうかを検討した。

BALB/c 背景の IL-1Ra 遺伝子欠損マウスは、様々な炎症病態（石灰化、血管新生、軟骨細胞様細胞・泡沫細胞の出現）を伴う大動脈弁周囲の動脈炎を発症する（12週齢で発症率 50%）。IL-1Ra 遺伝子欠損マウスの骨髄細胞移植により野生型マウスに動脈炎を誘発できることから、その発症に骨髄細胞由来の免疫細胞が寄与していることが示唆された。特に、T 細胞を欠損したヌードマウスに IL-1Ra 遺伝子欠損マウスの T 細胞を移植した場合にレシピエントのヌードマウスが動脈炎を発症することから、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスにおける動脈炎は IL-1/IL-1Ra システムの破綻によって異常に活性化された T 細胞による自己免疫性疾患であることが示された。

また、IL-1 は IL-1 と類似の生理作用をもつ IL-6 と Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) を誘導し、それらとともに炎症性免疫応答の誘導に深く関わる。そこで、IL-1Ra x IL-6 遺伝子欠損及び IL-1Ra x TNF $\alpha$  遺伝子欠損マウスを用いて、大動脈弁部の炎症病態の形成におけるそれらサイトカインの寄与を検討した。その結果、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスと比べて、IL-1Ra x TNF $\alpha$  遺伝子欠損マウスでは大動脈弁部の炎症を認められなかったのに対し、IL-1Ra x IL-6 遺伝子欠損マウスでは炎症の程度には差がなかったが、むしろ発症率の上昇が認められた。以上より、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスの動脈炎の発症は IL-1/IL-1Ra システムの破綻による T 細胞の異常な活性化によること、炎症性サイトカインとして TNF $\alpha$  が関与すること、逆に IL-6 は抗炎症作用を持つ可能性があることが示唆された。

## Chapter III. The Roles of IL-1/IL-1Ra System in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis

Chapter II で示したように、IL-1Ra の欠損による過剰な IL-1 の生理活性は、T 細胞性の自己免

疫性動脈炎を自然誘発することが明らかになったが、疾患の原因となる自己抗原の同定が困難であるため、詳細な免疫学的解析を行うことが難しい。そこで、自己抗原が既知の自己免疫疾患モデル、実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)を IL-1 関連遺伝子欠損マウスに誘導することにより、自己免疫疾患の発症機序における IL-1/IL-1Ra システムの役割について免疫学的な解析を行った。

百日咳毒素とともに自己抗原の免疫によって誘導ができる EAE は、IL-1 $\alpha$ / $\beta$ ダブル遺伝子欠損マウスでは、ほぼ完全に発症が抑制された。百日咳毒素を使わずに自己抗原を投与した場合、野生型マウスでは EAE の発症頻度及び重症度が低下するにも関わらず、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは症状が変わらなかった。このとき、IL-1 遺伝子欠損マウスでは、自己抗原特異的な T 細胞の増殖能が低下しており、IL-1Ra 遺伝子欠損マウスでは逆に亢進していることがわかった。さらに、これら遺伝子欠損マウスの T 細胞による炎症性サイトカインの産生量も T 細胞の増殖応答に相関した傾向を示し、自己抗原に対する T 細胞の挙動が EAE の病態形成に影響を与えていることが示唆された。この結果は、末梢リンパ組織において IL-1/IL-1Ra システムは、生体内への外来抗原の侵入時には、その抗原の排除に至適な免疫細胞の活性化を、自己抗原に対しては免疫寛容の誘導を調節していることを示唆する。言い換えれば、IL-1/IL-1Ra システムの破綻によって自己抗原に対する免疫寛容の破綻が導かれ、自己に反応する過剰な T 細胞の誘導を引き起こし、動脈炎 (Chapter II) や脳脊髄炎(Chapter III)の発症及び病態形成の原因となっていることが示唆された。

以上の解析から、IL-1/IL-1Ra システムの調節・制御機構の破綻が生体の恒常性の維持の不均衡を導き、自己免疫疾患などを誘導することが明らかになった。これらの結果を踏まえて、今まで考えられてきた IL-1 の免疫系での生理作用だけでなく、免疫系以外での多様な作用によって生体の恒常性の維持を担う中枢因子として IL-1/IL-1Ra システムの役割を考察した。

**Figure 1. IL-1/IL-1Ra System**

