

## 論文の内容の要旨

論文題目 遺伝子欠損マウスを用いた炎症性免疫応答の機構解析

指導教官 岩倉 洋一郎 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

氏名 小宮山 寛

継続的な局所性あるいは全身性炎症を主徴とする慢性自己免疫疾患の病因は、遺伝的背景、免疫、内分泌異常、環境的要因などが推測されているが明確にはなっていない。そのため、そのほとんどの自己免疫疾患に対する有効な治療法が確立できていないのが現状である。しかしながら、多くの自己免疫性疾患患者の病変部において炎症の誘導に関わる炎症誘導因子が過剰に検出されることから、これら過剰な炎症誘導因子の産生や活性を阻害することによる炎症の減弱、症状の緩和が期待される。その主たる炎症誘導因子として炎症性サイトカインが挙げられる。サイトカインは免疫細胞を中心として様々な細胞から産生・分泌される細胞間情報伝達因子であり、免疫系に限らず、中枢神経系や内分泌系にも多様な生理活性を示す(作用の多様性)。また、これまでに数多くのサイトカインが同定されているが、異なるサイトカインが同一の細胞に作用して、類似の生理活性を示す特徴(作用の重複性)を有する。さらに、炎症を増強させる作用をもつサイトカイン、例えば、炎症性サイトカイン interleukin-1(IL-1) や tumor necrosis factor (TNF)が、他の細胞からそれ自身を誘導し、炎症をより効果的に誘導する他、速やかに炎症応答を鎮静化させるために、炎症性サイトカインが抗炎症性サイトカイン、IL-10 や IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra)を誘導する。通常、このようなサイトカインネットワークを介して免疫応答依存的な炎症反応の惹起—鎮静化のバランスが保たれ、生体の恒常性が維持されているが、何らかの原因でそのバランスが破綻した場合、慢性炎症を伴う自己免疫性疾患などの疾病が誘導されると考えられ

る。

本研究では自己免疫性疾患である多発性硬化症(multiple sclerosis: MS)の発症機構に焦点をあてた。MSは中枢神経系における代表的な炎症性自己免疫であり、自己抗原ミエリン塩基性タンパク質を持つ視神経、大脳、脊髄など中枢神経細胞が自己のミエリン反応性 T 細胞によって攻撃を受け、中枢神経系内で広範囲にわたり炎症性脱髄病変を呈し、症状としては四肢の麻痺や時空間認知障害を示す。この自己免疫性疾患の炎症病態には、自己反応性 T 細胞の誘導及び活性化、そしてこの活性化に伴う局所での炎症反応が認められ、その病態形成に炎症性サイトカインが深く関与していると推測される。そこで著者は、病態形成に自己抗原反応性 T 細胞が中心的な働きを担う MS の発症機序において、主に T 細胞から産生される炎症性サイトカイン IL-17 の病態形成における役割を、IL-17 欠損マウスを用いて検討した。

IL-17 は健常者では認められないが、MS や RA 患者の他、喘息、全身性エリテマトーデス、炎症性腸疾患および移植片拒絶反応をもつ患者の組織や血中で検出されることから、これら疾病の病態形成に何らかの寄与を持っていると考えられる。実際、MS 患者の脳部位において IL-17 が検出され、脳脊髄液もしくは血中から単離された単核球においてもこれらが検出されることや、MS の動物実験モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis: EAE)を誘導したマウスの脾臓で IL-17 が上昇していることなどから IL-17 は MS および EAE の病態形成に深く関与していることが考えられる。そこで、当研究室で確立された IL-17 欠損マウスに EAE を誘導し、EAE の病態形成における IL-17 の役割を個体レベルで検討した。

IL-17 欠損マウスでは野生型マウスに比べて顕著に EAE の発症の遅延および早期の症状の寛解が認められた。さらに、MOG<sub>35-55</sub> ペプチドで感作したマウスから得られたリンパ球は IL-17 を産生していた。以上の結果から、IL-17 は EAE の発症及び病態形成に深く関与するサイトカインであることが示唆された。EAE は T 細胞依存的な病態であり、その発症の第一ステップとしてミエリン特異的な T 細胞の増殖が必要となる。そこで IL-17 欠損マウスにおけるミエリン抗原特異的なリンパ球増殖応答を検討したところ、野生型マウスに比べ IL-17 欠損マウスはそのリンパ球増殖反応が低下していた。一方、EAE の病態形成に中心的な役割を果たす細胞集団は CD4<sup>+</sup> であり、感作 CD4<sup>+</sup> T 細胞を未感作マウスに移入することで EAE が誘導できることが広く知られている。また、本研究の検討により EAE 病態時における IL-17 産生細胞の大多数は好中球などの顆粒球ではない T 細胞であり、CD4<sup>+</sup> T 細胞から IL-17 が産生されることが明らかとなった。そこで MOG<sub>35-55</sub> ペプチドで感作した野生型および IL-17 欠損マウスから得られたリンパ球を *in vitro* にて MOG<sub>35-55</sub> ペプチドで再活性化し、CD4<sup>+</sup> に精製した後、未感作の野生型マウスに移入することで EAE を誘導した。その結果、IL-17 欠損マウス由来 CD4<sup>+</sup> T 細胞移入群は野生型のそれに比べ発症が遅延し、かつ病態が抑制された。以上の結果から、IL-17 欠損マウスで見られた EAE 発症の遅延は CD4<sup>+</sup> T 細胞から産生される IL-17 の欠損が原因であり、ミエリン特異的なリンパ球の増殖抑制が原因となる可能性が考えられた。一方、IL-17 欠損マウスでは EAE の慢性化は認められず、発症後

早期に病態の鎮静化が認められた。その理由として、IL-17 は抗原特異的な T 細胞の活性化に関与する他、マクロファージや線維芽細胞、血管内皮細胞などの IL-1 や TNF- $\alpha$  産生を誘導し、局所的な炎症誘導にも深く関与することが挙げられる。また、EAE を発症したマウスに抗 IL-17 抗体を投与すると病態が一部抑制されるとの報告があることから、IL-17 は EAE 病態において、初期の免疫応答である抗原特異的な T 細胞応答だけでなく、炎症局所での炎症応答に直接関与している可能性が考えられる。

EAE の病態形成には多くのサイトカインが関与しているものと考えられる。その中でも Th1 細胞の関与が大きいとされていたが、IFN- $\gamma$  欠損マウスでは野生型マウスに比べて EAE が増悪化することが報告されている。近年、IL-17 の上流に位置する IL-23 が EAE 病態に重要なサイトカインであるとの報告がなされた。そこで Th1 サイトカインと IL-17 のどちらがより EAE の病態に関与するのか明らかにするため、IFN- $\gamma$  欠損マウスと IL-17 欠損マウスそれぞれにおける IL-17 産生細胞、IFN- $\gamma$  産生細胞の割合をそれぞれ検討した。その結果 IFN- $\gamma$  欠損マウスにおいて IL-17 産生細胞が野生型より多く観察される一方、IL-17 欠損マウスにおける IFN- $\gamma$  産生細胞は野生型より多く観察される傾向が見られた。これらの結果は IFN- $\gamma$  欠損マウスの EAE 増悪化には IL-17 が関与している可能性を示しており、混沌としていた EAE における Th1 サイトカインの関与メカニズムを解明する一端になるものと思われる。

本研究により、EAE の発症及び病態形成において IL-17 は抗原特異的なリンパ球の誘導及び活性化に深く関与していることが明らかとなった。これらの知見は EAE および MS の発症機構の解明だけではなく、IL-17 に関係する細胞間情報伝達を選択的に阻害することによって新規の MS の治療法の開発に貢献できる可能性があると考えられる。