

論文の内容の要旨

論文題目 Roles of Interleukin (IL)-17 and IL-17F in the Immune System

免疫システムにおける Interleukin(IL)-17 と IL-17F の役割の解明

指導教員 岩倉 洋一郎

東京大学大学院医学系研究科

平成 15 年 4 月入学

医学博士課程

病因・病理学専攻

氏名 石亀 晴道

IL-17(IL-17A)は主に活性化 T 細胞から産生され、好中球遊走や炎症性サイトカイン、ケモカイン、接着分子といった様々な炎症性メディエーターを誘導する炎症性サイトカインである。近年、IL-17A は 6 つのファミリー(IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E/IL-25、IL-17F)を形成していることが明らかとなってきた。その中でも IL-17F は、IL-17A と最も相同性が高く、遺伝子座も IL-17A と同一染色体上に隣接して存在しており、レセプター(IL-17RA)も共有していることから、IL-17A と同様な生理活性を有していることが示唆されている。実際、IL-17F は IL-17A と同様にサイトカインやケモカインの産生誘導を介した顆粒球形成能や好中球遊走能を有していることが分かっている。また、最近、IL-17A を産生する CD4⁺T 細胞は、IFN- γ を産生する Th1 細胞でも IL-4 を産生する Th2 細胞でもない新たな T 細胞サブセット(Th17)であることが明らかとなったが、この Th17 細胞から IL-17F も産生されることが分かっている。さらに、Th17 細胞のナイーブ CD4⁺T 細胞からの分化誘導機構は、IL-12 シグナルにより誘導される Th1 細胞や IL-4 シグナルにより誘導される Th2 細胞とは異なり、TGF- β と IL-6 のシグナルが必要であることが示された。一方、Th17 細胞の生存や維持には IL-12 ファミリーサイトカインである IL-23 が重要であり、この IL-23 刺激により IL-17A と IL-17F のどちらの産生も促進されることが明らかとなっている。

最近、この IL-23/Th17 軸がマウス自己免疫疾患モデルであるコラーゲン誘導関節炎 (CIA)、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の発症に重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。しかしながら、IL-23p19 遺伝子欠損 (IL-23p19^{-/-}) マウスでは CIA や EAE の発症に完全に耐性であるのに対し、IL-17A^{-/-} マウスでは部分的にしか抑制できないことが分かっている。そのため、IL-17A と同様に IL-23 の下流に位置する IL-17F がこれら疾患モデルの病態形成に参与している可能性が示唆されている。

IL-23/Th17 軸は細菌感染の生体防御にも重要な役割を果たしていること知られている。IL-17RA^{-/-}、IL-23p19^{-/-} マウスでは、*Klebsiella pneumoniae* の気道感染に高感受性となり、さらに、病原性大腸菌感染モデルである *Citrobacter rodentium* の腸管感染においても IL-23/Th17 軸が生体防御に重要であることが分かっている。しかし、IL-17RA^{-/-} マウスや IL-23p19^{-/-} マウスでは、IL-17A と IL-17F のどちらの機能も障害されており、これら感染モデルの生体防御における IL-17A と IL-17F の役割分担については明らかとなっていない。

本研究は、免疫応答における IL-17A と IL-17F の機能的特異性や重複性を明らかにすることを目的として、新たに IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-} (IL-17A と IL-17F どちらも欠損) マウスを作製した。これら遺伝子欠損マウスを用いて、T 細胞依存性免疫応答や細菌感染の生体防御における IL-17A と IL-17F の役割について解析した。

1. T 細胞依存性免疫応答における IL-17A と IL-17F の役割の解析

T 細胞依存性免疫応答における IL-17A と IL-17F の役割を明らかにするために、はじめに、IL-17A^{-/-}、IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-} マウスに遅延型過敏症 (DTH) を誘導した。IL-17A^{-/-} マウスは、DTH 応答や抗原特異的な抗体産生が有意に抑制されたのに対して、IL-17F^{-/-} マウスではその抑制効果は見られなかった。一方、IL-17A/F^{-/-} マウスにおける DTH 応答や抗原特異的な抗体産生の抑制効果は IL-17A^{-/-} マウスと同程度であった。また、接触型過敏症 (CHS) においても、IL-17F^{-/-} マウスは野生型と比較して有意な差は認められなかった。以上のことより、IL-17F ではなく IL-17A が DTH や CHS の病態形成に重要であることが明らかとなった。

つぎに、自己免疫疾患における IL-17A と IL-17F の機能的相補性を明らかにするために、IL-17A^{-/-}、IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-} マウスに多発性硬化症モデルであるミエリンオリゴデンドロサイト糖蛋白 (MOG) ペプチド免疫による EAE を誘導した。IL-17A^{-/-} マウスでは、野生型マウスに比べ EAE の発症時期が遅延し、臨床的重症度が有意に低下したが、その抑制は完全ではなかった。一方、IL-17F^{-/-} マウスの EAE 重症度は野生

型マウスとの間に差は認められず、さらに、IL-17A/F^{-/-}マウスにおいても EAE 重症度の抑制効果は IL-17A^{-/-}マウスと同程度であった。以上のことより、IL-17F ではなく IL-17A が EAE の発症に重要な役割を果たしており、IL-23 により誘導される IL-17F 以外の因子が IL-17A 欠損時の EAE の病態形成に関与している可能性が示唆された。

また、IL-1 レセプターアンタゴニスト (Ra)^{-/-}マウスに自然発症する自己免疫性関節炎における IL-17F の役割について検討した。関節炎を発症した IL-1Ra^{-/-}マウスのリンパ節や関節局所では IL-17A と IL-17F の発現が亢進していた。IL-17F^{-/-}マウスと IL-1Ra^{-/-}マウスとの掛け合わせによる二重欠損マウスを作製したところ、IL-17F の欠損により関節炎の発症率が有意に減少したがその抑制はわずかであった。一方、IL-17A/F^{-/-}IL-1Ra^{-/-}マウスでは関節炎の発症がほぼ完全に抑制された。以上の結果、IL-17F は IL-1Ra^{-/-}マウスの自己免疫性関節炎の発症に関与しているが、IL-17F よりも IL-17A が病態形成に重要であることが明らかとなった。

2. 細菌感染の生体防御における IL-17A と IL-17F の役割の解析

IL-17A と IL-17F の細菌感染の生体防御における役割を明らかにするために、IL-17A^{-/-}、IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-}マウスを用いて *C. rodentium* 感染実験を行った。*C. rodentium* 経口感染により、IL-17A^{-/-}、IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-}マウスでは野生型マウスに比べ、感染初期より腸管付着菌体数の増加が認められた。感染後の IL-17A^{-/-}、IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-}マウスでは *C. rodentium* 特異的な抗体は正常に産生されていたことから、これらマウスでは自然免疫系の機能障害により *C. rodentium* に対して易感染性となっていることが示唆された。一方、IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-}マウスでは、野生型マウスや IL-17A^{-/-}マウスに比べ、顕著な腸管、脾臓の肥大が認められた。以上のことより、IL-17A と IL-17F のどちらも *C. rodentium* の菌体排除に必要であるが、IL-17F の方がより感染防御に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

興味深いことに、IL-17A/F^{-/-}マウスは、SPF 飼育環境下において *Staphylococcus aureus* の日和見感染に高感受性であることが分かった。IL-17A/F^{-/-}マウスでは、鼻周辺組織の皮下膿瘍、顎下リンパ節の腫脹、血中抗体価の増加が認められ、一方、IL-17A^{-/-}、IL-17F^{-/-}マウスではその症状は軽度、あるいは、認められないことから、IL-17A と IL-17F の作用の重複性が示された。また、*S. aureus* の全身感染モデルにおいて、IL-17A/F^{-/-}マウスは野生型マウスと比べて感受性に差が認められないことから、IL-17A と IL-17F は局所での *S. aureus* 感染防御に重要な役割を果たしている可

能性が考えられた。

本研究において、IL-17A^{-/-}、IL-17F^{-/-}、IL-17A/F^{-/-}マウスを用いた解析から、生体内において IL-17A と IL-17F は異なる役割を果たしていることが明らかとなった。IL-17A と IL-17F は Th17 細胞から産生され、レセプターも共有しているが、IL-17F よりも IL-17A が自己免疫疾患、抗原特異的な T 細胞の活性化や抗体産生に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。一方、IL-17A と同様に IL-17F も細菌感染防御に重要であり、特に、皮膚/粘膜組織局所で感染防御に関与していることが示唆された。今後、IL-17A と IL-17F の誘導機構、受容体を介した下流シグナルや産生細胞の相違点を明らかにし、様々な免疫応答における IL-17A と IL-17F の機能的特異性や重複性を分子レベルで明らかにすることで、IL-17-IL-17R シグナルを標的とした新しい炎症性疾患や細菌感染の治療法の開発につながることを期待される。