

「アレルギー疾患・自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」
平成 20 年度採択研究代表者

平野 俊夫

大阪大学大学院生命機能研究科・教授

臓器特異的自己免疫疾患・炎症疾患の制御機構の理解とその人為的制御

1. 研究実施の概要

これまで、免疫学では、“臓器特異的自己免疫疾患は、T 細胞あるいは B 細胞による臓器特異的な抗原の認識が必須である”と考えられていた。最近我々は、“T 細胞あるいは B 細胞の抗原認識に関わらずに、ウイルス等の環境因子と個人の遺伝的要因により IL-6 アンブの暴走による STAT3 の過剰な活性化が、臓器特異的に生じれば、抗原特異的 T 細胞の活性化に関わらず、自己免疫疾患を誘導することができる”ことを示してきた。本研究では、この考えをより発展させるとともに、さらに、亜鉛制御によるサイトカインシグナル制御という新しい考え方をもとに創薬開発に応用する技術基盤を確立することである。我々はマウスモデルとして F759 関節炎、実験的脳脊髄炎 (EAE)、コラーゲン誘導性関節炎等を用いている。これらの実験系を用いて、CD4+T 細胞から産生されるサイトカインが非免疫系の線維芽細胞に働いて IL-6 増幅ループを形成する事が自己免疫疾患の発症に関与している事を示した。さらに、亜鉛投与が多く自己免疫疾患を抑制する事を示して、最近、その抑制の分子メカニズムの一端を解明した。現在は T 細胞の臓器特異的抗原の認識と我々が発見した IL-6 アンブの関係を詳細に解析している。IL-6 アンブのターゲット分子の網羅的スクリーニングの系も動きだしたので、IL-6 アンブを生体内にて人為的に制御できる分子の同定も近いと思われる。そのような制御分子が同定できれば、炎症性疾患の人為的な制御も可能となる。さらに、今回、これまで生体における発現量は外来刺激によって変化しないと考えられてきた IL-7 が肝細胞から 1 型 IFN の刺激にて全身性に発現されて T 細胞の反応性を制御している事が示された。肝臓からは炎症の指標となる多くの急性期タンパクが同定されてきたが T 細胞の恒常性に非常に影響を与える IL-7 がそれに加わった。肝臓からの IL-7 発現を制御する事で人為的な T 細胞の反応性の制御が可能となると思われる。

2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

1.肝臓からの IL-7 発現による T 細胞反応の制御(論文 1)

これまで、IL-7 はリンパ球、T 細胞および B 細胞の恒常性に重要である事が示されてきたが、生体内におけるその発現レベルは一定に保たれている事、リンパ球の IL-7 への反応性は IL-7 受容体遺伝子の発現レベルの変動によって制御されている事が示されてきた。今回我々は TLR 信号にて肝臓から発現される IL-7 が T 細胞の恒常性および反応性に大きな影響を与えている事を示した。マウスの系において生体の IL-7 を検出する良い方法が無かったので我々は市販の抗体を用いて高感度の ELISA 法とウエスタンブロット法を作製した。これらの方法によって LPS 刺激後肝臓と腎臓から IL-7 が有意に発現されることがわかった。一方、脾臓、リンパ節ではその発現の減弱が観察された。さらに、肝臓切除術を施すと LPS を投与しても血中にほとんど IL-7 が認められないことがわかった。LPS 信号は TLR4 のアダプター分子である TRIF と Myd88 にて信号が伝えられ、TRIF 分子の下流のエフェクター分子として 1 型 IFN(IFN- β) が知られている。これら分子のノックアウトマウスを用いた解析から、IL-7 分子は LPS 刺激後、TRIF-IFN- β 依存的に肝臓から発現していることが判明した。以上の結果から、LPS-TRIF-IFN- β 依存的に肝臓から IL-7 分子が発現される事が判った。肝臓由来の IL-7 発現の機能を調べるために肝臓特異的な IL-7 のノックダウン法を作製した。用いた方法はハイドロダイナミック法と shRNA を組み合わせた方法で、この方法にて我々は 80% 以上の効率で IL-7 分子の発現を抑制できた。この方法を用いて LPS 投与後の肝臓由来の IL-7 発現の機能を調べた。LPS 投与にて T 細胞、B 細胞、マクロファージ、NK 細胞等の数が増えたが、肝臓由来の IL-7 にてその数が増えるのは T 細胞のみであった。T 細胞の中では CD4⁺、CD8⁺、メモリー、ナイーブとも LPS 依存性の増加に肝臓由来の IL-7 が関わっていた。実際、メモリー CD8⁺ T 細胞の CTL 機能や CD4⁺ T 細胞の実験的脳脊髄炎のモデルの誘導に肝臓由来の IL-7 が関わっていることが判明した。以上の結果から、肝臓由来の IL-7 をはじめとする多くの分子が T 細胞の活性化状態を制御できる可能性が示唆され、これらの分子を同定する事で新たな免疫系の人為的制御が可能となる事が示された。

3. 研究実施体制

(1)「大阪大学」グループ

① 研究分担グループ長: 平野 俊夫 (大阪大学、教授)

② 研究項目

1. IL-6 ループを形成できる細胞の同定
2. F759 関節炎発症における関節特異的抗原認識の不必要性の証明
3. IL-6 と IL-17 刺激による相乗的 IL-6 発現の分子機構の解明
4. IL-6 のターゲット分子の同定
5. 関節局所での F759 変異の重要性の証明
6. NF κ B 信号の解析
7. IL-6 ループによる糖尿病、肝炎さらに炎症反応の制御
8. Th17 細胞分化に関与する膜タンパクの同定
9. TLR シグナルと自己免疫疾患
10. IL-6 ループとそのターゲットのイメージング
11. 亜鉛投与マウスでの自己免疫疾患の抑制とそのメカニズム解析
12. 亜鉛トランスポーター欠損マウスでの自己免疫疾患の発症の増悪/抑制とそのメカニズム解析

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表 (原著論文)

1. Sawa, Y., Y. Arima, H. Ogura, C. Kitabayashi, J.-J. Jiang, T. Fukushima, D. Kamimura, T. Hirano, and M. Murakami. Hepatic IL-7 expression regulates T cell Responses, **Immunity**, 30, 447-457 2009.
2. Atsumi, T., *M. Sato, D. Kamimura, A. Moroi, Y. Iwakura, U. A. K. Betz, A. Yoshimura, M. Nishihara, T. Hirano and M. Murakami. IFN- γ expression in CD8+ T cells regulated by IL-6 signal is involved in superantigen-mediated CD4+ T cell death. **International Immunology** 21: 73-80, 2009. (*equal contribution)

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 0 件 (CREST 研究期間累積件数 : 0 件)