

「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

H24 年度 実績報告

岩倉洋一郎

東京理科大学・生命医科学研究所・実験動物学部門

IL-17 ファミリー分子、C 型レクチンを標的とした自己免疫・アレルギー疾患の
発症機構の解明と治療薬の開発

§1. 研究実施体制

(1)「岩倉」グループ

① 研究代表者:岩倉 洋一郎(東京理科大学生命医科学研究所、教授)

② 研究項目

- ・IL-17 ファミリー遺伝子の機能解析
- ・C 型レクチンファミリー遺伝子の機能解析
- ・新規関節炎発症関連遺伝子の解析

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

研究のねらい・概要

IL-17ファミリー分子およびC型レクチンに着目し自己免疫疾患・アレルギーの発症機構を解明すること、また新規関節炎発症関連遺伝子の生理機能解析を実施することで最終的に治療薬の開発に結びつけることを目的としている。IL-17 ファミリーに属する IL-17F ノックアウト(KO)マウスと IL-17A/F ダブル KO マウスを本事業により既に作出済みの IL-17AKO マウスと組み合わせて、自己免疫疾患・アレルギーや細菌感染防御における IL-17 ファミリー分子の機能分担と分子機序の解析を行う。一方、関節局所で発現亢進が認められた C 型レクチン受容体ファミリーの免疫システムにおける機能解析を進め生体防御反応や自己免疫疾患発症における生理的役割を理解し治療標的の可能性を検討する。また自己免疫・アレルギー疾患の病態理解を深め新たな治療標的を見出すことを目標として新規関節炎関連遺伝子の生理機能解析を進める。

研究進捗状況・成果

1. IL-17 ファミリー遺伝子の機能解析

関節リウマチ(RA)は関節部位の慢性炎症とそれに伴う軟骨・骨の破壊が進行し手足の関節変形と機能障害を引き起こす。RAは自己免疫疾患のひとつであると考えられており、実際RA患者血中には高濃度の自己抗体が検出される。関節滑液中に様々な炎症性サイトカインが検出され、TNF α やIL-6受容体に対する抗体投与により症状を緩和できることから、病態形成に於けるサイトカインの役割が注目されている。中でも、IL-17を産生するT細胞サブセットが同定され、RAの新たな治療標的として注目されている。我々はT細胞依存的に関節炎を自然発症するIL-1レセプターアンタゴニストノックアウトマウス(IL-1RaKO)を作出し、このマウスのIL-17遺伝子を欠損させると関節炎発症が完全に抑制されることを見出し、IL-17が関節炎発症に重要な役割を果たしていることを示した。さらにこのIL-17の産生細胞を解析したところ、IL-1RaKOの関節病変部位ではTh17細胞よりむしろ γ δ T細胞が主要なIL-17A産生細胞であることを見出した。また、ヌードマウスとの交配や抗 γ δ TCR抗体を用いた解析により、 γ δ T細胞が病態形成に深く関与していることを明らかにした。ところが、IL-1RaKOマウスから精製したIL-17産生性 γ δ T細胞(γ δ 17細胞)をscidマウスに移植したところ、単独の移入では関節炎の発症を認めず、CD4⁺T細胞を同時に移植する必要があることが示された。この結果はCD4⁺T細胞と γ δ 17細胞が協調して病態形成を行っていることを示している。近年、 γ δ 17細胞は乾癬など他の疾患でも病態形成に重要な役割を果たしていることが報告されており、新たな治療標的として注目される。

2.新規関節炎発症関連遺伝子の解析

2-1. *C1qtnf6* 遺伝子の機能解析

RAの発症には様々な要因が関与しており、環境要因とともに遺伝的要因が疾患発症・病態形成に重要であることが知られている。このRAの遺伝的素因を明らかにし新たな治療標的とするために、異なる関節炎発症機構を持つIL-1RaKOマウス、およびHTLV-Iトランスジェニックマウスの二種類のRAモデルマウスを用いて比較遺伝子解析を実施した。その結果*C1qtnf6*遺伝子は関節炎発症寄与遺伝子のひとつであることが示唆されたが、これまでその生理機能は全く知られていなかった。そこで*C1qtnf6*遺伝子欠損マウスを作製してII型コラーゲン投与による誘導関節炎に対する感受性を検討したところ、*C1qtnf6*遺伝子欠損マウスは高感受性となっていることが明らかとなった。また、*C1qtnf6*遺伝子を導入したトランスジェニックマウスは、コラーゲン誘導関節炎に対する感受性が低くなっていることが分かった。これらの結果は、*C1qtnf6*が関節炎抑制活性を持つことを示しており、RA治療への応用が考えられる。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Lee, J., Nakagiri, T., Oto, T., Harada, M., Morii, E., Shintani, Y., Inoue, M., Iwakura, Y., Miyoshi, S., Okumura, M., Hirano, T., and Murakami, M. IL-6 amplifier, NF- κ B-triggered positive feedback for IL-6 signaling, in grafts is involved in allogeneic rejection responses. *J. Immunol.*, **15**;189(4):1928-36, 2012 (DOI: 10.4049)
2. Yamaguchi, K., Shiozaki, K., Moriya, S., Koseki, K., Wada, T., Tateno, H., Sato, I., Asano, M., Iwakura, Y., and Miyagi, T. Reduced susceptibility to colitis-associated colon carcinogenesis in mice lacking plasma membrane-associated sialidase. *PLoS One*, **7**, e41132, 2012 (DOI:10.1371)
3. Diao, H., Liu, X., Wu, Z., Kang, L., Cui, G., Morimoto, J., Denhardt, D. T., Rittling, S., Iwakura, Y., Uede, T., and Li, L. Osteopontin-regulates interleukin-17 production in hepatitis. *Cytokine*, **60**, 129-137, 2012 (DOI: 10.1016)
4. Okamoto, Y., Hasegawa, M., Matsushita, T., Hamaguchi, Y., Huu, D. L., Iwakura, Y., Fujimoto, M., and Takehara, K. Potential roles of interleukin 17A in the development of skin fibrosis. *Arthritis Rheum.* **64**(11):3726-35, 2012 (DOI: 10.1002)
5. Nakatsuka, A., Wada, J., Iseda, I., Teshigawara, S., Higashio, K., Murakami, K., Kanzaki, M., Inoue, K., Terami, T., Katayama, A., Hida, K., Eguchi, J., Horiguchi, C. S., Ogawa, D., Matsuki, Y., Hiramatsu, R., Yagita, H., Kakuta, S., Iwakura, Y., and Makino, H. Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes*. **61**(11):2823-32, 2012 (DOI: 10.2337)
6. Vladimer, G. I., Weng, D., Paquette, S. W., Vanaja, S. K., Rathinam, V. A., Aune, M. H., Conlon, J. E., Burbage, J. J., Proulx, M. K., Liu, Q., Reed, G., Mecsas, J. C., Iwakura, Y., Bertin, J., Goguen, J. D., Fitzgerald, K. A., and Lien, E. The NLRP12 inflammasome recognizes *Yersinia pestis*. *Immunity*, **37**, 96-107, 2012 (DOI: 10.1016)
7. Yamanaka, D., Tada, R., Adachi, Y., Ishibashi, K. I., Motoi, M., Iwakura, Y., and Ohno, N. *Agaricus barasiliensis*-derived β -glucans exert immunoenhancing effects via a dectin-1-dependent pathway. *Int. Immunopharmacol.*, **14**, 311-319, 2012 (DOI: 10.1016)
8. Suzukawa, M., Morita, H., Nambu, A., Arae, K., Shimura, E., Shibui, A., Yamaguchi, S., Suzukawa, K., Nakanishi, W., Oboki, K., Kajiwara, N., Ohno, T., Ishii, A., Körner, H., Cua, D. J., Suto, H., Yoshimoto, T., Iwakura, Y., Yamasoba, T., Ohta, K., Sudo, K.,

- Saito, H., Okumura, K., Broide, D., Matsumoto, K., and Nakae, S. Epithelial cell-derived IL-25, but not Th17 cell-derived IL-17 or IL-17F, is crucial for murine asthma. *J. Immunol.*, **189**, 3641-3652, 2012 (DOI: 10.4049)
9. Botelho, F. M., Nikota, J. K., Bauer, C. M., Morissette, M. C., Iwakura, Y., Kolbeck, R., Finch, D., Humbles, A. A., and Stampfli, M. R. Cigarette smoke-induced accumulation of lung dendritic cells is interleukin-1 α -dependent in mice. *Respir Res.* 19;13:81, 2012 (DOI: 10.1186)
10. Ramadas, R. A., Ewart, S. L., Iwakura, Y., Medoff, B. D., and Levine, A. M. IL-36 α exerts pro-inflammatory effects in the lungs of mice. *PLoS One*, **7**, e45784, 2012 (DOI: 10.1371)
11. Sadik, C. D., Kim, N. D., Iwakura, Y., Luster, A. D. Neutrophils orchestrate their own recruitment in murine arthritis through C5aR and Fc γ R signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 13;109(46):E3177-85, 2012 (DOI: 10.1073)
12. von Banchet, G. S., Boettger, M. K., König, C., Iwakura, Y., Bräuer, R., and Schaible, H. G. Neuronal IL-17 receptor upregulates TRPV4 but not TRPV1 receptors in DRG neurons and mediates mechanical but not thermal hyperalgesia. *Mol. Cell Neurosci.*, 52:152-60, 2013 (DOI: 10.1016)
13. Kleinschnitz, C., Kraft, P., Dreykluft, A., Hagedorn, I., Göbel, K., Schuhmann, M. K., Langhauser, F., Helluy, X., Schwarz, T., Bittner, S., Mayer, C. T., Brede, M., Varallyay, C., Pham, M., Bendszus, M., Jakob, P., Magnus, T., Meuth, S. G., Iwakura, Y., Zerneck, A., Sparwasser, T., Nieswandt, B., Stoll, G., and Wiendl, H. Regulatory T cells are strong promoters of acute ischemia stroke in mice by inducing dysfunction of the cerebral microvasculature. *Blood*, 24;121(4):679-91, 2013 (DOI: 10.1182)
14. Erdmann, H., Roßnagel, C., Böhme, J., Iwakura, Y., Jacobs, T., Schaible, U. E., and Hölscher, C. IL-17A promotes macrophage effector mechanisms against *Trypanosoma cruzi* by trapping parasites in the endolysosomal compartment. *Immunobiology*, S0171-2985(12)00515-3, 2012 (DOI: 10.1016)
15. Blatner, N. R., Mulcahy, M. F., Dennis, K. L., Scholtens, D., Bentrem, D. J., Phillips, J. D., Ham, S., Sandall, B. P., Khan, M. W., Mahvi, D. M., Halverson, A. L., Stryker, S. J., Boller, A.-M., Singal, A., Sneed, R. K., Sarraj, B., Ansari, M. J., Oft, M., Iwakura, Y., Zhou, L., Bonertz, A., Beckhove, P., Benoist, C., Gounari, F., and Khazaie, K. Expression of ROR γ t marks a pathogenic T-regulatory cell subset in human colon cancer. *Science Translational Medicine*, 12;4(164):164ra159, 2012 (DOI: 10.1126)
16. Silverpil, E., Wright, A. K., Hansson, M., Jirholt, P., Henningson, L., Smith, M. E., Gordon, S. B., Iwakura, Y., Gjertsson, I., Glader, P., and Lindén, A. Negative

- feedback on IL-23 exerted by IL-17A during pulmonary inflammation. *Innate Immun.*, 2013 (in press)
17. Nakatsuka, A., Wada, J., Iseda, I., Teshigawara, S., Higashio, K., Murakami, K., Kanzaki, M., Inoue, K., Terami, T., Katayama, A., Hida, K., Eguchi, J., Ogawa, D., Matsuki, Y., Hiramatsu, R., Yagita, H., Kakuta, S., Iwakura, Y., and Makino, H. Vaspin inhibits apoptosis of endothelial cells as a ligand for cell-surface GRP78/VDAC complex. *Circ. Res.*, **112**, 771-780, 2013 (DOI: 10.1161)
18. Kurimoto, E., Miyahara, N., Kanehiro, A., Waseda, K., Taniguchi, A., Ikeda, G., Koga, H., Nishimori, H., Tanimoto, Y., Kataoka, M., Iwakura, Y., Gelfand, E. W., and Tanimoto, M. IL-17A is essential to the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema in mice. *Respir. Res.* 20;14(1):5, 2013 (DOI: 10.1186)
19. Lemaître, P. H., Vokaer, B., Charbonnier, L. M., Iwakura, Y., Field, K. A., Estenne, M., Goldman, M., Leo, O., Rimmeling, M., and Le Moine, A. Cyclosporine A drives a Th17- and Th2-mediated posttransplant obliterative airway disease. *Am. J. Transplant.*, 2013 (DOI: 10.1111) (in press)
20. Kon, S., Minegishi, N., Tanabe, K., Watanabe, T., Funaki, T., Wong, W. F., Sakamoto, D., Higuchi, Y., Kiyonari, H., Asano, K., Iwakura, Y., Fukumoto, M., Osato, M., Sanada, M., Ogawa, S., Nakamura, T., and Satake, M. Smad 1 deficiency perturbs receptor trafficking and predisposes mice to myodysplasia. *J. Clin. Invest.*, **123**, 1123-1137, 2013 (DOI: 10.1172)
21. Deroide, N., Li, X., Lerouet, D., Van Vré, E., Baker, L., Harrison, J., Poittevin, M., Masters, L., Nih, L., Margail, I., Iwakura, Y., Ryffel, B., Pocard, M., Tedgui, A., Kubis, N., and Mallat, Z. MFGES inhibits inflammasome-induced IL-1 β production and limits postischemic cerebral injury. *J. Clin. Invest.*, **123**, 1176-1181, 2013 (DOI: 10.1172)
22. Shepardson, K. M., Ngo, L. Y., Amanianda, V., Latge, J.-P., Barker, B. M., Blosser, S. J., Iwakura, Y., Hohl, T. M., and Cramer, R. A. Hypoxia enhances innate immune activation to *Aspergillus fumigatus* through cell wall modulation. *Microbe. Infect.*, 2013 (DOI:10.1016) (in press)
23. Sugita, S., Kawazoe, Y., Imai, A., Usui, Y., Iwakura, Y., Isoda, K., Ito, M., and Mochizuki, M. Mature dendritic cell suppression by IL-1 receptor antagonist on retinal pigment epithelium cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **26**, 2013 (DOI:10.1167) (in press)