

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

岩倉洋一郎

東京大学医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター センター長・教授

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. 研究実施の概要

本研究は、IL-17 ファミリー分子、及び C 型レクチンを標的とした自己免疫疾患・アレルギー疾患の発症機構を解明し、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。平成 20 年度は、IL-17 ファミリー分子の生体内での機能を解析する目的で、IL-17F ノックアウト(KO)マウスと IL-17A/F ダブル KO マウスを作製し、自己免疫疾患や感染症における役割を解析した。その結果、自己免疫疾患やアレルギー反応には IL-17F ではなく IL-17A が重要で、粘膜における細菌感染防御には IL-17F は IL-17A と同等に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。これらの結果から、IL-17F の機能を保持した状態で IL-17A の機能を阻害する方法を開発することにより、有効な自己免疫疾患やアレルギー疾患の治療が可能となることが示唆された。

2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

IL-17A は Th17 と呼ばれる T 細胞サブセットから主に産生され、炎症性疾患の発症において重要な役割を果たしている (Iwakura, Y., et al., *Immunol. Rev.*, 226:57-79, 2008.)。Th17 からは IL-17A のみではなく IL-17F も産生されるが、これらの分子の役割分担は不明であった。そこで、我々は IL-17F ノックアウト(KO)マウスをと IL-17A/F ダブル KO マウスを作製し、以前に作製した IL-17A KO マウスと組み合わせ、以下の解析を行った (Ishigame, H., et al., *Immunity.*, 30:108-119, 2009)。

1. 自己免疫疾患における IL-17A、IL-17F の役割

自己免疫疾患発症における IL-17 ファミリー分子の役割を解析する目的で、IL-1 レセプターアンタゴニスト(IL-1Ra) ノックアウト(KO)マウスと交配し、関節炎の発症率を検討した。その結果、IL-17F-IL-1Ra KO マウスでは関節炎の発症率は有意に低下したものの部分的で、IL-17A/F-IL-1Ra KO マウスではより強く、ほぼ完全に発症率が抑制していた(図1)。以前に、IL-17A-IL-1Ra KO マウスで関節炎の発症がほぼ完全に抑制されることを報告しており、これら

の結果から、自己免疫疾患の発症には IL-17A が重要で、IL-17F は部分的な役割を果たしているに過ぎないことが示された。

2. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)の感染防御における役割

SPF 環境下で、IL-17A/F ダブル KO マウスは加齢に伴い鼻部皮

下に膿瘍が形成され、顎下リンパ節の腫脹が認められた。日和見感染である可能性が考えられたので、膿瘍部から菌体を回収し、同定した所、*S. aureus* であることが明らかとなった。そこで、IL-17A KO、IL-17F KO、IL-17A/F KO および野生型マウスの鼻部粘膜からホモジネートを作製し、CFU アッセイを行った。その結果、IL-17A/F KO マウスからは菌体が回収されたのに対し、IL-17A KO、IL-17F KO マウスからは野生型マウスと同様に菌体は検出されなかった。これらの結果から、*S. aureus* の感染防御には IL-17A と IL-17F が同等に関与していることが示された。

3. *Cyrobactor rodentium* (*C. rodentium*)の感染防御における役割

IL-17A と IL-17F が同等に日和見感染菌に対する感染防御に重要な役割を果たしていることが示されたので、次にマウスの病原性大腸菌である *C. rodentium* を用い、感染実験を行った。その結果、IL-17A KO、IL-17F KO、IL-17A/F KO マウスからは野生型マウスより多くの菌体が回収された(図2)。また、感染後の菌体回収量や大腸、脾臓の重量、大腸の病理像は IL-17A KO マウスよりも IL-17F KO マウスの方が重症化の傾向が見られた。これらの結果から大腸における *C. rodentium* の感染防御には IL-17F がより重要な役割を果たしていることが示唆された。

次に、IL-17A および IL-17F による生体防御反応のメカニズムの解析を行った。その結果、野生型マウスでは *C. rodentium* 感染後に β -defensin の発現が亢進するのに対し、IL-17A KO、IL-17F KO マウスでは、発現量が有意に低いことが明らかとなった。これらの結果から、IL-17A、IL-17F はともに β -defensin の発現誘導を介し、生体防御反応を担っていることが示された。従って、IL-17A を標的にした自己免疫疾患の治療薬を開発した場合、IL-17F の機能を保持出来れば副作用としての感染症の問題が軽減出来る可能性がある。

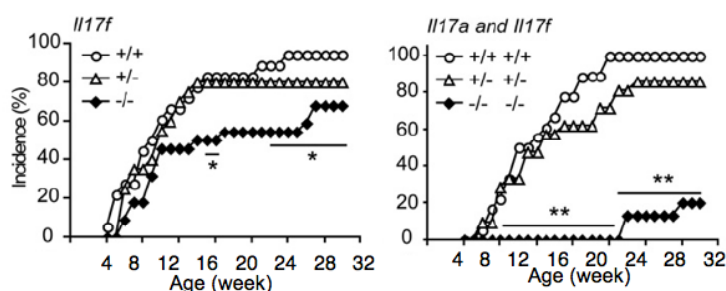


図 1. IL-17A KO マウスの関節炎発症における IL-17F の役割。IL-17F は部分的に関節炎発症に関与している。

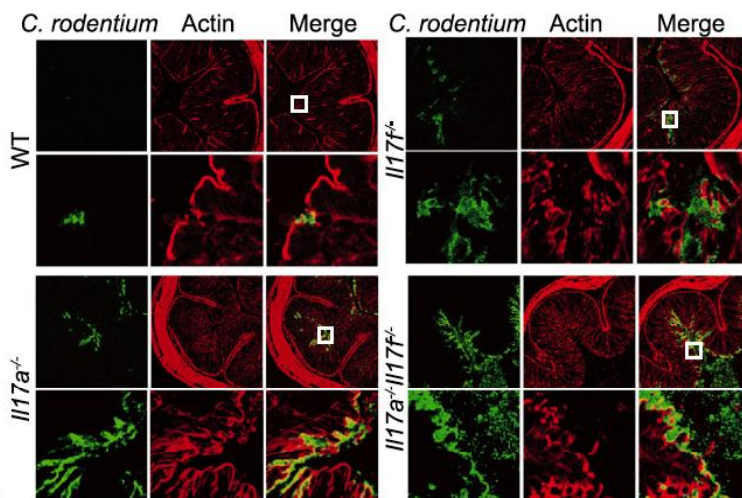


図 2. IL-17F KO マウスは *C. rodentium* に対する感染抵抗性が低下している。感染 14 日後の腸管の免疫染色像。

4. IL-17AとIL-17Fの産生細胞に関する解析

IL-17Aの発現は大腸よりも小腸での強いことが知られていた。そこで、IL-17AとIL-17Fの発現細胞を検討した。その結果、野生型マウスでは *C. rodentium* 感染後、IL-17A、IL-17Fの発現がともに亢進するが、IL-17Aの方がより強く発現亢進していた。また、腸管リンパ節細胞ではIL-17AとIL-17Fの両方産生する細胞が認められたものの、感染後はIL-17Aの割合が増加した。

そこで、リンパ球と腸管粘膜での発現を区別する目的で、Rag KOマウスを用い、腸管膜リンパ節と大腸でIL-17AとIL-17Fの発現を比較した。その結果、Rag KOマウスにおける腸管でのIL-17Fの発現は野生型マウスと全く差がなかった(図3)。一方で、IL-17Aの発現は腸管やリンパ節で低下しており、腸管で見られるIL-17Aはリンパ球由来であることが示された。これらの結果から、IL-17Aは主にリンパ球から産生されるが、IL-17Fは腸管粘膜でも産生され、相補的に生体防御を担っていることが示唆された。

以上の結果から、IL-17Aは感染防御に重要な役割を果たしている一方で、自己免疫疾患やアレルギー反応を引き起こすが、IL-17Fは自己免疫やアレルギー反応にはほとんど関与しないことが明らかとなった。IL-17Aを特異的に標的とする方法を開発することで、副作用の少ない治療薬が開発出来る可能性が示唆された。

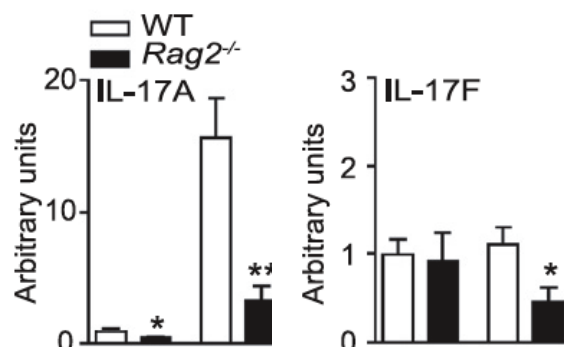


図3. IL-17AとIL-17Fの産生細胞スペクトル。IL-17Aは主にリンパ球から産生されるが、IL-17Fは腸管でも強く発現する。

3. 研究実施体制

(1)「岩倉」グループ

① 研究分担グループ長: 岩倉洋一郎(東京大学医科学研究所、教授)

② 研究項目:

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

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

1. Ishigame, H., S. Kakuta, T. Nagai, M. Kadoki, A. Nambu, Y. Komiyama, N. Fujikado, Y. Tanahashi, A. Akitsu, H. Kotaki, K. Sudo, S. Nakae, C. Sasakawa, and Y. Iwakura. Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucosal bacterial infection and allergic responses. *Immunity* 30:108-119. 2009.
2. Kojima, M., T. Ashino, T. Yoshida, Y. Iwakura, M. Sekimoto, and M. Degawa. IL-1 regulates the Cyp7a1 gene and serum total cholesterol level at steady state in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 379:239-242. 2009.

3. Lopez Kostka, S., S. Dinges, K. Griewank, Y. Iwakura, M.C. Udey, and E. von Stebut. IL-17 promotes progression of cutaneous leishmaniasis in susceptible mice. *J. Immunol.* 182:3039-3046. 2009.

(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)