

ウイルス感染防御免疫反応における IL-17 の機能解析

森本 純子 [北海道大学遺伝子病制御研究所/助教]

背景・目的

近年自己免疫疾患におけるインターロイキン17(IL-17)、特に IL-17 を産生する CD4⁺T 細胞(Th17)の病態形成における役割が明らかとなり、IL-17 が新しい治療ターゲットとして注目されている。しかしながらその一方でウイルス感染防御免疫応答における IL-17 の機能についてはほとんど明らかにはなっていない。本研究ではウイルス感染とくに近年鳥インフルエンザウイルスなどの高病原性ウイルスの出現が問題となっているインフルエンザ A ウイルス感染症における IL-17 および Th17 の機能を明らかにすることを目的とし、インフルエンザ A ウイルス感染防御免疫応答の増強および効果的なワクチンの開発につなげたいと考えている。

内容・方法

インフルエンザ A ウイルス感染防御免疫応答における IL-17 の機能を *in vivo* で明らかにするために、IL-17 欠損(IL-17^{-/-})マウスおよび野生型(WT)マウスを用いた感染実験を行った。WT マウスおよび IL-17^{-/-}マウスにインフルエンザ A ウイルス(PR8; H1N1)を腹腔内感染させ、感染後経時的に採血し、IL-12 および IL-6 の産生を ELISA 法を用いて検討した。次にウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞のクローン増殖がピークとなる感染後7日目に脾臓を取り出し、*in vitro* でドミナントなエピトープであることが知られている NP(ASNENMETM)および PA(SSLENFRAYV)ペプチドで脾細胞を刺激、フローサイトメトリーを用いて IFN- γ 産生 CD8⁺T 細胞の出現を解析することで、間接的にウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞の数を検討した。さらに亜型の異なる x31(H3N2)を WT マウスおよび IL-17^{-/-}マウスに経鼻感染し、感染後10日目に気管支肺胞洗浄液(BAL)および脾細胞を NP および PA デキストラマーを用いて染色し、直接的にウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞の数を検討した。

結果・成果

PR8 を 2×10^6 pfu 腹腔内感染し、早期の IL-12(p40) および IL-6 の産生量を WT マウス、IL-17^{-/-}マウス間で比較検討した。感染後3時間日では IL-12 の産生量は IL-17^{-/-}マウスで WT マウスと比べて高値を示していたが(WT; 329.5 pg/ml, IL-17^{-/-}; 561.7 pg/ml)、感染後6時間目以降では WT マウスとの差は認められなかった。IL-6 の産生は WT マウスにおいては感染後3時間目でピークを示し(410.3 pg/mL)、6時間日ではほぼ投与前のレベルにまで低下していた(68.1 pg/mL)。一方で IL-17^{-/-}マウスでは感染後6時間目においても IL-6 の

産生は高値を示していた(581.5 pg/mL)。次に感染後7日目の脾細胞を *in vitro* で NP および PA ペプチドで刺激し、IFN- γ 産生 CD8⁺T 細胞をフローサイトメトリーを用いて解析し、間接的にウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞の数を WT マウスおよび IL-17^{-/-}マウス間で比較検討した。NP ペプチド刺激後の IFN- γ 産生 CD8⁺T 細胞の数は WT マウスでは 4.8×10^5 個、IL-17^{-/-}マウスでは 7.1×10^5 個であった。また PA ペプチド刺激後の IFN- γ 産生 CD8⁺T 細胞の数は WT マウスでは 5.99×10^5 個、IL-17^{-/-}マウスでは 7.7×10^5 個であった。次に亜型の異なるインフルエンザ A ウイルス x31; H3N2 を 1×10^5 pfu 経鼻感染させ、感染後10日目の気管支肺胞洗浄液(BAL)および脾細胞を NP および PA のデキストラマーを用いて染色、フローサイトメトリーを用いて解析し、直接的にウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞の数を WT マウスおよび IL-17^{-/-}マウス間で比較検討した。BAL 中のウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞の数は WT マウスおよび IL-17^{-/-}マウス間で差は認められなかった。しかしながら脾細胞中のウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞の数は WT マウスと比較し IL-17^{-/-}マウスで多い傾向が認められた(NP デキストラマー染色: WT マウス; 0.412×10^5 個、IL-17^{-/-}マウス; 0.748×10^5 個、PA デキストラマー染色: WT マウス; 0.335×10^5 個、IL-17^{-/-}マウス; 0.643×10^5 個)。これまでの結果より、インフルエンザ A ウイルス感染後の宿主免疫応答において IL-17 が何らかの役割を担っていることが示唆された。

今後の展望

今後は IL-17^{-/-}マウスにインフルエンザ A ウイルスを再感染させることで二次免疫応答を誘導し、その二次免疫応答を解析したいと考えている。さらに IL-17^{-/-}マウスの脾臓から分離した樹状細胞および骨髓細胞より分化させた樹状細胞を用いてインフルエンザ A ウイルスに対する反応性を IFN- α 、IL-12、IL-6 の産生等を指標に解析したいと考えている。