

# 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<sup>+</sup>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<sup>-/-</sup>)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<sup>-/-</sup>マウスにインフルエンザAウイルス(PR8; HIN1)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<sup>+</sup>T細胞のクローニング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(ASNNENMETM)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- $\gamma$ 産生CD8<sup>+</sup>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<sup>+</sup>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<sup>-/-</sup>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<sup>+</sup>T細胞の数を検討した。

## 結果・成果

PR8を $2 \times 10^6$ 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<sup>-/-</sup>マウス間で比較検討した。感染後3時間目ではIL-12の産生量はIL-17<sup>-/-</sup>マウスでWTマウスと比べて高値を示していたが(WT; 329.5pg/ml, IL-17<sup>-/-</sup>; 561.7pg/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(410.3pg/ml)、6時間目ではほぼ投与前のレベルにまで低下していた(68.1pg/ml)。一方でIL-17<sup>-/-</sup>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(581.5pg/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- $\gamma$ 産生CD8<sup>+</sup>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<sup>+</sup>T細胞の数をWTマウスおよびIL-17<sup>-/-</sup>マウス間で比較検討した。NPペプチド刺激後のIFN- $\gamma$ 産生CD8<sup>+</sup>T細胞の数はWTマウスでは $4.8 \times 10^5$ 個、IL-17<sup>-/-</sup>マウスでは $71 \times 10^5$ 個であった。またPAペプチド刺激後のIFN- $\gamma$ 産生CD8<sup>+</sup>T細胞の数はWTマウスでは $5.99 \times 10^5$ 個、IL-17<sup>-/-</sup>マウスでは $77 \times 10^5$ 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 $1 \times 10^5$ 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<sup>+</sup>T細胞の数をWTマウスおよびIL-17<sup>-/-</sup>マウス間で比較検討した。BAL中のウイルス抗原特異的CD8<sup>+</sup>T細胞の数はWTマウスおよびIL-17<sup>-/-</sup>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<sup>+</sup>T細胞の数はWTマウスと比較しIL-17<sup>-/-</sup>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;  $0.412 \times 10^5$ 個、IL-17<sup>-/-</sup>マウス;  $0.748 \times 10^5$ 個、PAデキストラマー染色: WTマウス;  $0.335 \times 10^5$ 個、IL-17<sup>-/-</sup>マウス;  $0.643 \times 10^5$ 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<sup>-/-</sup>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<sup>-/-</sup>マウスの脾臓から分離した樹状細胞および骨髄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- $\alpha$ 、IL-12、IL-6の産生等を指標に解析したいと考えている。