

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591783

研究課題名(和文) IL-15による免疫反応制御機構

研究課題名(英文) Regulation of immune responses by IL-15

研究代表者

山田 久方 (HISAKATA YAMADA)

九州大学・生体防御医学研究所・准教授

研究者番号：20363369

研究成果の概要(和文)：

関節リウマチ(RA)等の炎症性疾患の病態解明には、免疫反応の中心を担うT細胞の機能制御機構の理解が必要である。本研究課題ではRAで発現上昇が認められる炎症性サイトカインの一つであるIL-15が、T細胞の機能に及ぼす影響について、主にマウスを用いたin vivoの実験で検討した。その結果、IL-15は特に自己抗原特異的T細胞の分化、維持、活性化の制御に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：

In order to elucidate the pathogenesis of inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis (RA), it is important to understand the mechanism of regulating T cell functions that play central role in immune responses. In the present study, we addressed the role of IL-15, one of the proinflammatory cytokines that are upregulated in RA, in T cell functions in vivo by using mouse models. We found IL-15 is especially important in the development, maintenance, and activation of self-specific T cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科

キーワード：リウマチ病学

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(RA)をはじめとする炎症性疾患の病態解明、新規治療法の開発においては、T細胞の分化、機能制御機構の理解は重要な課題である。IL-15はRAでも発現上昇が認められる炎症性サイトカインの一つであり、かつT細胞がそのレセプターを発現することからも、自己反応性T細胞の制御を介してRA病態へ関与する可能性

が考えられた。

2. 研究の目的

IL-15遺伝子欠損マウスおよびIL-15遺伝子導入マウスを用いることにより、生体内でIL-15が各種T細胞の分化や機能にどのように影響を及ぼしているかを明らかにする。

3. 研究の方法

自己抗原特異的 T 細胞をクローンレベルで解析する手法として、雄個体で発現する HY 抗原を特異的に認識する T 細胞レセプター (TCR) の遺伝子導入マウス (HY TCR Tg マウス) を利用する。このマウスの T 細胞は、雄個体では自己抗原特異的 T 細胞、雌個体においては外来抗原特異的 T 細胞と見なすことができる。

HY 抗原特異的 T 細胞の分化や機能に対する IL-15 の影響を調べるため、HY TCR Tg マウスを IL-15 欠損マウス (IL-15KO)、もしくは IL-15 過剰発現マウス (IL-15Tg) と交配し、以下の項目について検討した。

(1) 自己抗原特異的 T 細胞の分化および各種機能分子の発現

(2) 自己抗原特異的 T 細胞の抗原およびサイトカイン刺激に対する反応性

(3) 自己抗原特異的 T 細胞の末梢での増殖および維持機構

IL-15 の産生細胞について詳細な解析を行うためには、MHC 欠損マウスをレシピエントに IL-15 欠損マウスをドナーにした、骨髄キメラマウスを作製した。

なお、本研究課題遂行中に、免疫制御性 CD8T 細胞の同定が報告されたため、それらの IL-15 依存性についても解析を行った。

また、各種自己免疫疾患の病態への関与が推定されている、IL-17 産生 T 細胞が、IL-15 によっても活性化されるシグナル伝達分子、STAT5 によって抑制されることも報告されたため、ここにおける IL-15 の役割についても検討を加えた。

4. 研究成果

(1) 自己抗原特異的 T 細胞への IL-15 の生理作用

① 自己抗原特異的 T 細胞の分化および維持は IL-15 に高依存性であるが、外来抗原特異的 T 細胞は IL-15 の有無による影響をほとんど受けないことがわかった。特に前者の恒常性維持の為の持続的分裂には IL-15 からのシグナルが必須であった。

② IL-15 欠損状態では自己抗原特異的 T 細胞の機能成熟も障害されており、サイトカイン産生能、細胞傷害能が低下していた。

③ 炎症局所で自己抗原特異的 T 細胞は反応性に増殖、活性化を示した。この際 IL-15 からのシグナルは、特に増殖反応の誘導に重要な役割を果たしていた。一方、サイトカイン産生は IL-15 非依存性にも誘導されることがわかった。

④ 骨髄キメラマウスを用いた解析からは

、自己抗原特異的 CD8T 細胞が IL-15 に反応する際は、同一の骨髄由来細胞に提示された抗原ペプチドと IL-15 を同時に認識することが必要であることが分かった。

⑤ これら IL-15 反応性自己抗原特異的 CD8T 細胞は、その分化過程において、骨髄由来細胞によって正の選択を受けることも明らかになった。

これは胸腺上皮細胞に発現する自己 MHC 分子によって正の選択を受ける、通常の外来抗原特異的 CD8T 細胞とは大きく異なる性質である。特に加齢に伴い胸腺組織が退縮すること、加齢とともに自己免疫疾患の発症が増加することを考えると興味深い知見と思われる。

(2) 免疫制御性 CD8T 細胞については、IL-15 依存性が他の CD8T 細胞サブセットより低いことが明らかになった。すなわち、IL-15 により CD8T 細胞の活性化バランスが制御されている可能性が考えられた。

(3) IL-15 とレセプターや下流のシグナル伝達分子 Stat5 を共有する IL-2 は IL-17 産生 CD4T 細胞 (Th17 細胞) の分化を負に制御することが示されている。しかし我々の解析では IL-15 は IFN- γ 産生 Th1 細胞の分化には促進的に作用するが、Th17 細胞の分化にはほとんど影響を与えないことがわかった。

以上の研究より IL-15 は、T 細胞の中でも特に自己抗原特異的 CD8T 細胞の分化、維持、活性化の制御に重要な役割を果たしていることが明らかになった。このため各種自己免疫疾患の病態形成にも深く関与することが推測された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 22 件)

- 1) Yamada H, Nakashima Y, Okazaki K, Mawatari T, Fukushi JI, Oyamada A, Fujimura K, Iwamoto Y, Yoshikai Y. Preferential Accumulation of Activated Th1 Cells Not Only in Rheumatoid Arthritis But Also in Osteoarthritis Joints. J Rheumatol. 2011 May 1 [Epub ahead of print] 査読有
- 2) Takeuchi A, Dejima T, Yamada H, Shibata K, Nakamura R, Eto M, Nakatani T, Naito S, Yoshikai Y. IL-17 production by $\gamma\delta$ T cells is important for the antitumor effect of

- Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin treatment against bladder cancer. *Eur J Immunol.* 2011 Jan;41(1):246-51. 査読有
- 3) Sun X, Yamada H, Shibata K, Muta H, Tani K, Podack ER, Iwakura Y, Yoshikai Y. CD30 Ligand Is a Target for a Novel Biological Therapy against Colitis Associated with Th17 Responses. *J Immunol.* 2010 Dec 15;185(12):7671-80 Nov 10. 査読有
 - 4) Yamada H. Th17 cells and human arthritic diseases. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.* 2010;33(4):214-21.
 - 5) Sun X, Yamada H, Shibata K, Muta H, Tani K, Podack ER, Yoshikai Y. CD30 ligand/CD30 plays a critical role in Th17 differentiation in mice. *J Immunol.* 2010 Aug 15;185(4):2222-30. 査読有
 - 6) Yamada H. Current perspectives on the role of IL-17 in autoimmune disease. *J Inflamm Res.* 2010 Jun;3:33 - 4. 査読有
 - 7) Nakamura R, Maeda N, Shibata K, Yamada H, Kase T, Yoshikai Y. Interleukin-15 is critical in the pathogenesis of influenza A virus-induced acute lung injury. *J Virol.* 2010 Jun;84(11):5574-82. 査読有
 - 8) Saiwai H, Ohkawa Y, Yamada H, Kumamaru H, Harada A, Okano H, Yokomizo T, Iwamoto Y, Okada S. The LTB4-BLT1 Axis Mediates Neutrophil Infiltration and Secondary Injury in Experimental Spinal Cord Injury. *Am J Pathol.* 2010 May;176(5):2352-66. 査読有
 - 9) Ishikawa E, Ishikawa T, Morita Y, Toyonaga K, Yamada H, Takeuchi O, Akira S, Kinoshita T, Yoshikai Y, Yamasaki S. Direct recognition of mycobacterial cord factor, trehalose dimycolate, by C-type lectin Mincle. *J Exp Med.* 2009 Dec 21;206(13):2879-88. 査読有
 - 10) Oyamada A, Ikebe H, Itsumi M, Saiwai H, Okada S, Shimoda K, Iwakura Y, Nakayama K, Iwamoto Y, Yoshikai Y, Yamada H. Tyrosine kinase 2 plays critical roles in the pathogenic CD4 T cell responses for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol.* 2009 Dec 1;183(11):7539-7546. 査読有
 - 11) Takeuchi A, Kamiryoy Y, Yamada H, Eto M, Shibata K, Haruna K, Naito S, Yoshikai Y. Oral administration of xanthan gum enhances antitumor activity through Toll-like receptor 4. *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14):1562-7. 査読有
 - 12) Ishikawa T, Yamada H, Oyamada A, Goshima F, Nishiyama Y, Yoshikai Y. Protective role of Fas-FasL signaling in lethal infection with herpes simplex virus type 2 in mice. *J Virol.* 2009 Nov;83(22):11777-83. 査読有
 - 13) Yamada H. Th17 cells in human rheumatoid arthritis. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.* 2009 Aug;32(4):249-55.
 - 14) IL-15 is critical for the maintenance and innate functions of self-specific CD8(+) T cells. Itsumi M, Yoshikai Y, Yamada H. *Eur J Immunol.* 2009 Jun 18;39(7): 1784-1793. 査読有
 - 15) Kamiryoy Y, Eto M, Yamada H, Yajima T, Harano M, Takeuchi A, Tatsugami K, Hamaguchi M, Naito S, Yoshikai Y. Donor CD4 T Cells Are Critical in Allogeneic Stem Cell Transplantation against Murine Solid Tumor. *Cancer Res.* 2009 Jun 15;69(12):5151-8. 査読有
 - 16) Tang C, Yamada H, Shibata K, Yoshida SI, Wajjwalku W, Yoshikai Y. IL-15 protects antigen-specific CD8+ T cell contraction after Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin infection. *J Leukoc Biol.* 2009 Jul;86(1):187-94. 査読有
 - 17) Tang C, Yamada H, Shibata K, Muta H, Wajjwalku W, Podack ER, Yoshikai Y. A novel role of CD30L/CD30 signaling by T-T cell interaction in Th1 response against mycobacterial infection. *J Immunol.* 2008 Nov 1;181(9):6316-27. 査読有
 - 18) Shibata K, Yamada H, Nakamura R, Sun X, Itsumi M, Yoshikai Y. Identification of CD25+ gammadelta T cells as fetal thymus-derived naturally occurring IL-17 producers. *J Immunol.* 2008 Nov 1;181(9):5940-7. 査読有
 - 19) Hikosaka Y, Nitta T, Ohigashi I, Yano K, Ishimaru N, Hayashi Y, Matsumoto M, Matsuo K, Penninger JM, Takayanagi H, Yokota Y, Yamada H, Yoshikai Y, Inoue J, Akiyama T, Takahama Y. The cytokine RANKL produced by positively selected thymocytes fosters medullary thymic epithelial cells that express autoimmune regulator. *Immunity.* 2008 Sep;29(3): 438-50. 査読有
 - 20) Nakamura R, Shibata K, Yamada H, Shimoda K, Nakayama K, Yoshikai Y. Tyk2-signaling plays an important role in host defense against Escherichia coli through IL-23-induced IL-17 production by gammadelta T cells. *J Immunol.* 2008 Aug 1;181(3):2071-5. 査読有
 - 21) Kaibara N, Yamada H, Shuto T, Nakashima Y, Okazaki K, Miyahara H, Esaki Y, Hirata G, Iwamoto Y. Comparative histopathological analysis between tenosynovitis and joint

synovitis in rheumatoid arthritis. Histopathology. 2008 Jun;52(7):856-64. 査読有

- 22) Yamada H, Nakashima Y, Okazaki K, Mawatari T, Fukushi JI, Kaibara N, Hori A, Iwamoto Y, Yoshikai Y. Th1 but not Th17 cells predominate in the joints of patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2008 Sep;67(9):1299-304. 査読有

[学会発表] (計 9 件)

- 1) H. Yamada, A. Oyamada, Y. Yoshikai: Preferential accumulation of Th1 cells in the joints of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. 14th International Congress of Immunology, 平成22年8月24日, 神戸市
- 2) R. Nakamura, N. Maeda, O. Noyori, K. Shibata, H. Yamada, Y. Yoshikai: Interleukin-15 is critical in the pathogenesis of influenza A virus-induced acute lung injury. 14th International Congress of Immunology. 平成22年8月24日, 神戸市
- 3) 柴田健輔、山田久方、吉開泰信: The basic helix-loop-helix protein HES1は自然発生IL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞分化に必要である. 第21回日本生体防御学会学術総会. 平成22年7月22-24日, 仙台市
- 4) 小山田亜希子、藤村謙次郎、岩本幸英、吉開泰信、山田久方: マウスコラーゲン誘導性関節炎におけるTyk2の重要性, 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成22年4月24日, 神戸市
- 5) 山田久方、逸見百江、吉開泰信: IL-15は自己抗原特異的CD8陽性T細胞の維持と自然免疫機能に重要である。第39回日本免疫学会総会・学術集会、平成21年12月4日、大阪市
- 6) 山田久方: ヒト関節リウマチと Th17 細胞, 第37回日本臨床免疫学会総会, 平成21年11月13日, 東京都
- 7) 逸見百江、吉開泰信、山田久方: IL-15は自己抗原特異的 CD8T 細胞の維持や機能を制御する. 第20回日本生体防御学会学術総会, 平成21年7月25-26日. 東京都
- 8) 山田久方、中島康晴、岡崎賢、馬渡太郎、福士純一、小山田亜希子、岩本幸英: 関節リウマチの関節内 CD4T 細胞サブセットの解析, 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会, 平成21年4月23-26日, 東京都
- 9) 山田久方、逸見百江、吉開泰信: 自己抗原特異的メモリー型 T 細胞の骨髄由来細胞による正の選択, 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 平成20年12月1日, 京都市

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 久方 (YAMADA HISAKATA)
九州大学・生体防御医学研究所・准教授
研究者番号: 20363369

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: