

(研究題目) マウスレトロウイルス(LP-BM5 MuLV)による免疫不全症の発症機構の解析
The molecular and cellular mechanism of the development of immunodeficiency induced by LP-BM5 MuLV
(研究者)等 秦道 東京大学医科学研究所 助手
Yasumichi Hitoshi Research Associate, The Institute of Medical Science,
The University of Tokyo

3. 英文サマリー

The murine acquired immunodeficiency syndrome (MAIDS) produces immunodeficiency with abnormal lymphoproliferation and hypergammaglobulinemia. Elevated mRNA expression for IFN- γ and IL-10 was observed during the course of MAIDS. The mice that had been passively administered anti-IFN- γ mAb showed the delayed development of MAIDS. IFN- γ -dependent pathway may be involved in the development of MAIDS.

4-1. 研究目的

マウス後天性免疫不全症候群(MAIDS)は、LP-BM5マウス白血病ウイルス(LP-BM5 MuLV)感染によりマウスに誘導される免疫不全症で、著明なリンパ節腫脹と脾腫、多クローン性のB細胞活性化を伴う。これまでの研究によってLP-BM5 MuLVの標的細胞はCD4陽性T細胞、B細胞やマクロファージであることが報告されているが、MAIDS発症にはCD4陽性T細胞とB細胞の両方の存在が必須であることが明らかにされている。MAIDSにおいてはサイトカインの産生異常の存在が知られており、サイトカインを介するCD4陽性T細胞とB細胞の相互作用がMAIDS発症に極めて重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。本研究ではMAIDSに認められる免疫不全の発症にどのようなサイトカインが関与するのかを解明することを目的として、LP-BM5-MuLV感染マウスにおけるサイトカイン産生と異常の有無ならびにサイトカインに対する中和抗体生体内投与のMAIDS発症に及ぼす影響を解析した。

4-2. 研究経過および成果

1) LP-BM5 MuLV感染マウスの脾臓におけるIL-2, -3, -4, -5, -6, -10, IFN- γ , TNF- α , - β , TGF- β のmRNAの発現をRT-PCR法にて調べると、ウイルス感染後にIL-2, -4, -6, -10, IFN- γ , TNF- α , - β , TGF- β の発現を認めたが、特にIFN- γ とIL-10の発現が感染後

1週から13週まで持続的に強く認められた。IL-4の発現は感染後13週目に著明に上昇した。

2) LP-BM5 MuLV 感染後経時的に脾臓T細胞亜集団の変化をフローサイトメーターにて解析すると感染初期からのCD4陽性T細胞の増加と感染後3週目におけるB細胞の一過性の増加を認めた。フローサイトメーターを用いてT細胞を分画しIFN- γ とIL-10のmRNAの発現をRT-PCR法にて解析すると、IFN- γ はCD4陽性T細胞ならびにCD8陽性T細胞から産生されていること、IL-10はT細胞のみならずT細胞以外の細胞からも産生されることが示された。血中におけるIFN- γ 、IL-10の産生を酵素抗体法(ELISA)にて測定したが検出限界以下であった (IFN- γ : <1U/ml、IL-10 : <0.2 ng/ml)。

3) 免疫グロブリンの各アイソタイプの産生は様々なサイトカインによって制御されていることが知られている。LP-BM5 MuLV 感染マウスの血中の各アイソタイプ (IgEを除く)濃度をELISAにて測定すると感染直後からIgM、IgG3、IgG1、IgG2b、IgG2a値の上昇を認めたが、生体内や試験管内でIFN- γ により産生が増強されるIgG2aは感染前に比して血中濃度で最大1800倍にまで上昇し血中総蛋白量の50%以上を占めた。血中IgA値は他のアイソタイプと異なり感染5週以降から著明な上昇を示した。

4) IFN- γ やIL-10に対する中和抗体を投与したマウスにLP-BM5 MuLVを感染させると、抗IFN- γ 抗体投与マウスは対照群 (Rat IgG 投与群、抗体非投与群) に比して脾腫やリンパ節腫脹ならびにConAやLPSに対する応答性低下の程度が軽く、血中IgG2a値の上昇の程度も対照群の50%以下であった。抗IL-10抗体投与マウスにLP-BM5-MuLVを感染させると脾腫やConAやLPSに対する応答性低下の程度に対照群との差を認めなかったが、血中IgG2a値が対照群の約2倍に上昇していた。

これらの結果からLP-BM5-MuLV感染後のサイトカイン産生において、IFN- γ とIL-10の産生異常を認めること、IFN- γ はMAIDS発症に促進的に作用していること、IFN- γ とIL-10はIgG2aの産生異常に関して拮抗的に作用していることが示された。IFN- γ は、T細胞やNK細胞から分泌されT細胞、B細胞やマクロファージなど多くの細胞に様々な作用を發揮するサイトカインである。IFN- γ のどのような作用がMAIDS発症に重要な役割を果たすのか興味あるところである。現在、LP-BM5MuLVの感染やウイルス遺伝子発現におけるIFN- γ の役割について試験管内にて解析を行なっている。またIFN- γ 受容体欠損マウスを用いてIFN- γ が完全に作用

しない場合のMAIDS発症についても解析を進めているところである。つい最近、HIV感染においてもIFN- γ とIL-10の産生が強く誘導されていることが報告され、HIV感染後のサイトカインの産生は細胞性免疫の誘導に重要なTh1型 (IFN- γ 、IL-2、etc) や液性免疫の誘導に重要なTh2型 (IL-4、IL-5、IL-10、etc) のどちらにも分類できないことが示された。我々の研究成果はHIV感染後の免疫不全症発症におけるIFN- γ とIL-10の関与の把握にも重要な基礎データとなることが期待される。

謝辞

上記の研究は東京大学医科学研究所免疫学研究部の高津聖志教授、植原昭治君、国立予防衛生研究所の水落敏明博士、牧野正彦博士、DNAX研究所のM.Howard博士との共同で行なわれたことを記してここに深謝いたします。

4-3. 発表論文リスト

1. Hitoshi, Y., Y. Okada, E. Sonoda, A. Tominaga, M. Makino, K. Suzuki, J. Kinoshita, K. Komuro, T. Mizuochi, and K. Takatsu. 1993. Delayed progression of a murine retrovirus-induced acquired immunodeficiency syndrome, MAIDS, in X-linked immunodeficient mice. *J. Exp. Med.* 177:621-626.
2. Hitoshi, Y., E. Sonoda, Y. Kikuchi, S. Yonehara, H. Nakauchi, and K. Takatsu. 1993. Interleukin 5 receptor positive B cells, but not eosinophils, are functionally and numerically influenced in the mice carrying the X-linked immune defect. *International Immunology.* 5:1183-1190.
3. Katoh, S., M. M. Bending, Y. Kanai, L. D. Shultz, Y. Hitoshi, K. Takatsu, and A. Tominaga. 1993. Maintenance of CD5+ B cells at an early developmental stage by interleukin-5 transgenic mice. *DNA AND CELL BIOLOGY.* 12:481-491.
4. Uehara, S., Y. Hitoshi, F. Numata, M. Makino, M. Howard, T. Mizuochi, and K. Takatsu. 1994. IFN-g-dependent pathway play a critical role in the pathogenesis of murine immunodeficiency syndrome induced by LP-BM5 murine leukemia virus. (Submitted)