

研究情報

ブタインターロイキン 12 および 23 関連分子群の同定

KOKUHO Takehiro

動物疾病対策センター 製造科長 國保 健浩

はじめに

人や動物は自然感染やワクチン接種によって感作された病原体に対して免疫を獲得します。再感染に際して免疫系が病原体を認識すると、抗体による中和機構（体液性免疫）や細胞障害性 T 細胞による感染細胞の除去機構（細胞性免疫）が速やかに活性化され、病原体は体内から排除されます。このような病原体特異的なエフェクターの調節には、細胞の表面に CD4 と呼ばれる分化抗原を持つヘルパー T 細胞が重要な役割を果たすと考えられています。1986 年に Mosmann らはこの細胞群がガンマ・インターフェロン (IFN γ) やインターロイキン (IL) -2 を産生して細胞性免疫の増強に寄与する亜集団（サブセット）と、IL-4 を分泌して B 細胞の抗体産生を増強するサブセットという機能の異なる細胞群から構成され、宿主の免疫応答が両サブセットの優劣によって決まるという仮説を提示し、これらのサブセットを Th1、Th2 と名付けました。この「Th1/Th2 パラダイム仮説」はマウスを用いた解析により試験管レベルだけではなく、個体レベルにおける免疫現象に当てはまる優れた理論として、現在、広く支持されています。その後の解析によって、ヘルパー T 細胞群には IL-2、4 の両方を分泌する Th0 や自己免疫疾患や炎症形成に関与し IL-17 を分泌する Th17 などの新たなサブセットが見出されています。

ブタにおける免疫系の理解のために

ブタの免疫能の獲得におけるヘルパー T 細胞の役割を解析する上では、免疫調節に関与する種々の因子（サイトカイン）やマーカーとなる表面抗原の同定が必要になります。我々のグループもこれまでブタのサイトカイン遺伝子の単離や遺伝子組換えによる大量生産技術の確立に取り組み、IL-2、4、10、12、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子、IFN γ などを同定したほか、ブタのリンパ球表面抗原についても活性化 IL-2 受容体 α 鎖 (IL-2R α) として知られる CD25 や CD212 などの構造を明らかにしてきました。

しかし、ブタにおける Th1/Th2/Th17 サブセットの解析にはこれらのツールだけでは不十分です。とりわけ Th1 サブセットの誘導に必須な IL-12 に特異的な受容体 (IL-12R) や Th17 サブセットの維持・増殖に必要な IL-23 ならびにその受容体 (IL-23R) について

一次構造を明らかにする必要があります。

IL-12/IL-23 関連分子群の同定

上記のように IL-12 と IL-23 はそれぞれ Th1 と Th17 という異なる T 細胞亜集団の誘導に関与する因子ですが、p40 と呼ばれる構成蛋白質（サブユニット）を共有するなどの類似点を持つ IL-12 ファミリーのメンバーです。また、それらの受容体である IL-12R および IL-23R も IL-12R β 1 と呼ばれるサブユニットを共有し、ヘテロ二量体分子として構造的な類似性を示します。そこで我々は、動物種間での相同性ならびに両因子間の構造的類似性に基づいてブタゲノムデータベースを検索するとともに、活性化ブタリンパ球の発現ライブラリーを探索することにより IL-23 の p19 鎖 (IL-23p19)、IL-12R/IL-23R 共通のサブユニットである IL-12R β 1 ならびに IL-23R 固有のサブユニットである IL-23R α の各遺伝子を単離、同定して IL-12/IL-23 関連分子群の一次構造を解明するとともに染色体上の遺伝子座を特定しました (図 1、2)。

次いで、IL-23p19 遺伝子を挿入した組換えバキュロウイルスを作製し、これを報告済みの IL-12p40 遺伝子組換えバキュロウイルスと昆虫培養細胞に共感染することによって、Th17 サブセットの IL-17 分泌を亢進させる活性型ブタ IL-23 の生産に成功しました (図 3)。

成果の活用について

これら成果により、ブタにおいても Th1、Th17 サブセットの動態や機能解析が可能になります。ブタでは循環血中の T 細胞群の構成が人やマウスとは大きく異なること、IL-12 による Th1 の活性化や IL-4 による

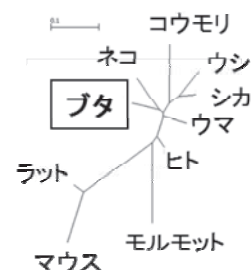


図1. 哺乳動物のIL-23p19遺伝子の系統樹

Th2 の活性化の機構に人とも違いが見出されることなどが報告されており、獲得免疫の成立やその制御における T 細胞の役割について新たな知見が得られると期待されます。また、ブタ IL-12 (既報) に加えてブタ IL-23 の大量生産に成功し、ブタでの効果的な免疫誘導技術の開発研究に提供することも可能になります。

おわりに

我々はこれらの成果が家畜免疫学研究に有用な知見やツールとして広く利用されることを願っています。末筆ではありますが、この場を借りて共同研究者なら

びに関係各位に深謝致します。

掲載誌 1) Kokuho T. et al., J. Vet. Med. Sci. 74, 2012, 367-372., 2) Kokuho T. et al., INRA/AFFRCs, 2009, 59-60.

注：本稿で紹介したブタ IL-23p19、IL-12Rβ1 および IL-23Rα はそれぞれアクセッション番号 AB521204、AB490071、AY948114 を付して DDBJ/Genbank/EMBL データベースに登録されています。

この研究内容は農研機構ホームページでもご覧になれます。
http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/niah/2011/170c1_10_16.html

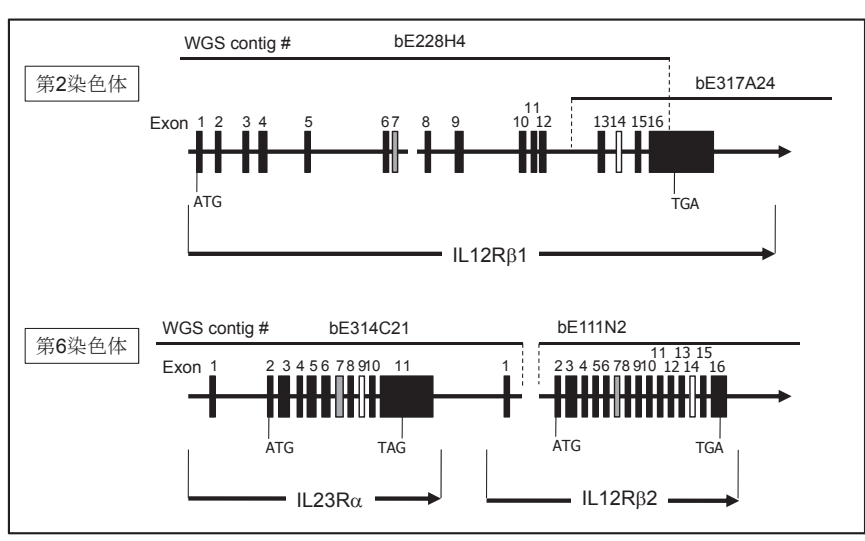


図2. ブタIL-12Rβ1遺伝子(上) および IL-23Rα 遺伝子、IL-12Rβ2遺伝子の構造(下)

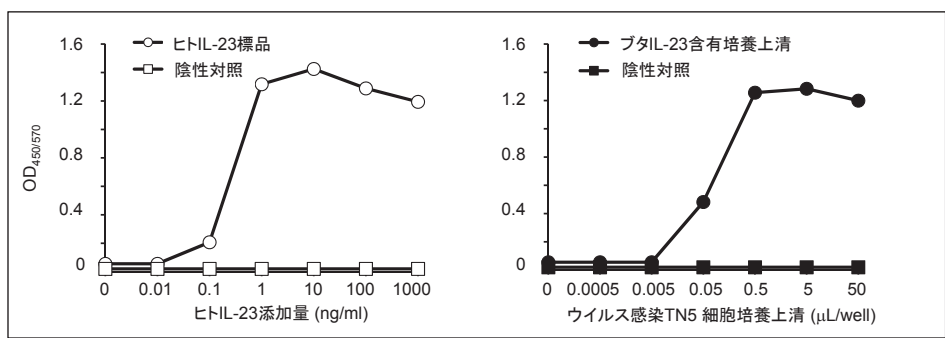


図3. 組換え型ブタIL-23の生物活性
 マウスの脾細胞をブタIL-23を含有する昆虫細胞培養上清の存在下で4日間培養した際のIL-17Aの産生量をマウスIL-17A ELISAを用いて測定した(波長450nmにおけるOD値で表記)。