

動物サイトカインの研究とその利用を目指して

動物衛生研究所 免疫研究部 免疫機構研究室 主任研究官 宗 田 吉 広

1. はじめに

現在、動物疾病の多くは、従来のワクチンや抗生物質では防除の困難な、細胞内寄生病原体により引き起こされる。また、畜産の臨床現場では、子ウシや子ブタの下痢症や肺炎、ストレスや高密度飼育に起因する日和見感染症や複合感染症、あるいは乳房炎等の生産病が依然として予防・治療の困難な難防除疾病として大きな問題となっている。一方、抗生物質の乱用に伴う耐性菌の出現が問題となり、動物における抗生物質の使用は縮小される傾向にある。さらに、最近の高病原性トリインフルエンザの発生、BSE、O157、E型肝炎等の新興・再興感染症の多発から、消費者の食の安全性や人獣共通感染症に関する関心は非常に高く、健康な動物から安全な畜産物を供給する必要性はますます高まっている。

このような背景から、動物の本来持つ免疫機構を解明し、免疫機能の活性化や制御を通じて、感染症に対する新しい免疫学的な診断・予防・治療技術を開発することが要望されている。動物衛生研究所・免疫研究部では、動物の免疫機構の解明に基づく、免疫機能の増強技術によるこれら難防除疾病の予防・治療法の開発を主要研究目標に設定しており、その1つの柱がサイトカイン研究である。

そこで、本講演では、前半でサイトカインの概要について述べるとともに、動物において今後検

討すべきサイトカインの利用法について簡単に紹介したい。また、後半では、近年インターフェロロン γ (IFN-g) 誘導因子として注目されているサイトカインである、インターロイキン 18 (IL-18) について、我々がこれまでブタで検討してきたデータを紹介したい。

2. サイトカインとは

生体の免疫応答は、マクロファージや好中球といった貪食能を有する細胞やNK細胞などのリンパ球により担われる、抗原特異性のない自然免疫と、マクロファージ等の抗原提示細胞による抗原提示を受けて、抗原特異的な免疫応答を行う獲得免疫に大別される。さらに獲得免疫には、B細胞が抗原特異的な抗体を産生する体液性免疫と、抗原特異的な感作T細胞が誘導される細胞性免疫に分けられる。免疫細胞をはじめとした種々の細胞から分泌され、産生局所で微量で効果を発揮して、これら宿主の免疫応答を調節・制御する蛋白性の生理活性物質を総称してサイトカインと呼ぶ。

ヒトにおけるサイトカインは、腫瘍や難治性の慢性疾患、あるいは造血系に作用するサイトカイン等を中心に研究が行われており、そのいくつかは実用化に至っている(表1)。動物においても、最近次々と主要なサイトカインの遺伝子がクローニングされ、その組み換え蛋白質や抗体の供給体

(ymuneta@affrc.go.jp)

動物サイトカインの研究とその利用を目指して

表1 日本でヒト用に実用化されているサイトカイン関連製品とその用途・市場規模 (2004 日経バイオ年鑑より)

製 品	用 途	2003 年の市場規模 (億円)
エリスロポエチン (EPO)	腎性貧血	1260
顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)	腫瘍化学療法後の好中球減少症治療	415
インターフェロン α (IFN- α)	腎ガン, B 型, C 型肝炎, 慢性骨髄性白血病, 多発性骨髄腫等	430
インターフェロン β (IFN- β)	悪性黒色腫, 膠芽腫, B 型, C 型肝炎等	150
インターフェロン γ (IFN- γ)	腎ガン, 菌状肉腫, 慢性肉芽腫, 成人 T 細胞白血病	5
インターロイキン 2 (IL-2)	血管肉腫, 腎ガン	120
繊維芽細胞増殖因子 (bFGF)	褥創, 皮膚潰瘍	36
インスリン様成長因子 (IGF-I)	オーファン・ドラッグ	3
抗腫瘍壊死因子抗体	クローン病, 関節リウマチ	15
抗インターロイキン 2 受容体 α 鎖抗体	免疫抑制剤との併用による腎移植後の急性拒絶反応抑制	5

制も整いつつあり、ネコ・カリシウイルス感染症およびイヌ・パルボウイルス感染症の治療薬であるネコインターフェロン製剤「インターキャット」に続くべく、臨床応用を目指した基礎的な検討が進められている。

3. 動物サイトカイン研究の目的

現在あるいは今後の動物サイトカイン研究の目的は、主として以下のような視点に基づくと考えられる。

- 1) 各病原体に対する宿主免疫応答機構の解明
- 2) 抗ウイルス・抗細胞内寄生細菌作用
- 3) 新たな診断法・ワクチン効果の判定法への応用
- 4) 経口微量投与サイトカイン (疾病軽減・増体改善)
- 5) ワクチンアジュバント (粘膜ワクチン・多価ワクチン・DNA ワクチン等)
- 6) 幼弱動物の免疫系・自然免疫系・粘膜免疫系の活性化
- 7) 乳房炎等の慢性難治性疾患の治療
- 8) サイトカインアンタゴニスト・可溶性サイト

カインレセプター・抗サイトカイン抗体

- 9) 抗原提示細胞の *in vitro* での培養と、各病原体の抗原提示メカニズムの解明
- 10) 繁殖成績 (着床・受胎) の向上
- 11) サイトカインおよびサイトカイン受容体の多型と抗病性 (ゲノム研究)
- 12) 抗腫瘍・抗アレルギー作用 (主に伴侶動物)

4. ブタ・インターロイキン 18 に関する研究

インターロイキン 18 (IL-18) は、マクロファージから産生され、T リンパ球や NK 細胞からのインターフェロン γ (IFN-g) を誘導する因子として見いだされたサイトカインである。これまでにヒト、マウス、ラットの IL-18 のほか、獣医学領域においても、ブタ、ウシ、ウマ、ニワトリ、イヌ、ネコといった主要な動物種において IL-18 が近年次々に報告されており、その注目度の高さがうかがえる。

IL-18 の注目すべき生物活性の 1 つは、その強力な IFN-g 誘導能である。現在、動物疾患の多くは、従来のワクチンで防御できない細胞内寄生病原体により引き起こされる。IL-18 は IL-12 とともに細

胞内寄生病原体の防御や排除に中心的役割を果たす IFN-g を誘導し、マクロファージを活性化して、生体防御能を高める役割を果たす。我々は、ブタの IL-18 を見だし、IFN-g 誘導活性を持つ活性型タンパクの発現やその大量発現系、および抗ブタ IL-18 モノクローナル抗体を利用した高感度検出系を開発してきた。また、作製したブタ活性型 IL-18 は粘膜アジュバント活性を有することも明らかとなった (図 1)。これらの研究が、今後動物における難防除疾病の防除技術やワクチンアジュバントとしての予防技術の開発につながるよう努力したい。

また、IL-18 はマクロファージのみならず、粘膜上皮細胞もその主要な産生細胞である。畜産現場では、疾病はますます多様化、複雑化し、複合感染症や日和見感染症の病態を呈する呼吸器感染症や腸管感染症が問題化している。IL-18 は感染の最前線である粘膜上皮において、種々の病原体に対する適切な防御免疫反応の誘導に貢献していると考えられる。実際に、我々は、ブタの気管上皮

や腸管上皮細胞における IL-18 の発現を明らかにし、ブタの重要な呼吸器感染症であるマイコプラズマ肺炎において、IL-18 が肺炎病変の進行に伴い多量に産生されることを見だしており、これまで不明だったマイコプラズマ肺炎における宿主免疫機構の解明に貢献したいと考えている。

さらに、IL-18 は NK 細胞の細胞傷害活性を増強することにより、自然免疫系を活性化する。動物においては獲得免疫機構の未熟な幼弱期に疾病が多発するが、IL-18 はこの時期の非特異的な生体防御能を高めて幼弱動物の損耗を防ぎ、さらには、未熟な獲得免疫機構を刺激して、より早期に成熟させると考えられる。我々も、ブタ活性型 IL-18 が、ブタの NK 細胞の細胞傷害活性を増強すること (図 2) や、1 日齢の新生子ブタに IFN-g 応答を引き起こすことを見だしており、幼弱動物の下痢や呼吸器感染症、あるいは日和見感染症に対する免疫増強等に应用できるのではないかと期待している。

抗原提示を受けたナイーブ T 細胞から分化した

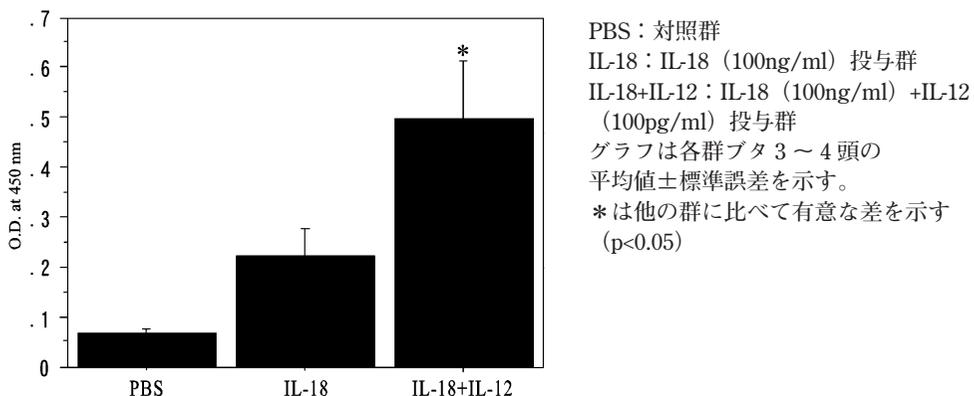


図 1 ブタ活性型 IL-18 の粘膜アジュバント活性

Mycoplasma hyopneumoniae と各サイトカインを経鼻投与後、感染 4 週目に採取した肺胞洗浄液中の p46 抗原に対する IgA 抗体価を ELISA で測定した。

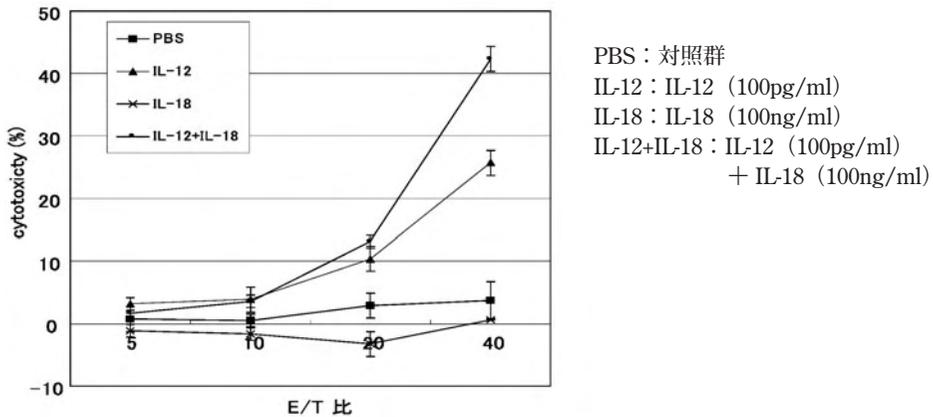


図2 バタ活性型 IL-18 によるバタ NK 細胞の細胞傷害活性の増強

ヘルパー T 細胞は、その産生するサイトカインのパターンから、IFN-g や IL-2 を産生し、細胞性免疫を誘導する 1 型ヘルパー T (Th1) 細胞と、IL-4 や IL-10 を産生し、抗体応答を中心とした体液性免疫を誘導する 2 型ヘルパー T (Th2) 細胞に分類される。最近の研究で IL-18 は、IL-12 存在下では Th1 免疫応答を引き起こすが、IL-12 非存在下では、IL-4 などの産生を誘導して Th2 免疫応答を促進することが報告された。この IL-18 の特性は、ワクチンアジュバントとしての応用を考える上で重要であり、IL-18 は IL-12 や IL-4 などのサイトカインと組み合わせることにより、多様な病原体抗原に対して適切な防御免疫反応を誘導できることを示唆している。このような IL-18 の生理活性は、今後動物への臨床応用が期待される、多価ワクチンのアジュバントとして有望な特性であると考えている。

このように、IL-18 は自然免疫と獲得免疫、あるいは細胞性免疫と体液性免疫の両者に関与する重要なサイトカインである。我々も、IL-18 をはじめとしたサイトカインのワクチンアジュバントや免

疫増強剤としての獣医学領域への応用を目指して、今後も研究を続けていきたいと考えている。

5. 引用文献

- 1) Okamura H. et al. (1995). Cloning of a new cytokine that induces IFN-g production by T cells. *Nature*, 378, 88-91.
- 2) Nakanishi K. et al. (2001). Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. *Annu. Rev. Immunol.* 19, 423-474.
- 3) Muneta Y. et al. (2000). Porcine interleukin-18: cloning, characterization, and expression of the recombinant protein with baculovirus system. *Cytokine*. 12, 566-572.
- 4) Muneta Y. et al. (2000). Detection of porcine interleukin-18 by sandwich ELISA and immunohistochemical staining using its monoclonal antibodies. *J. Interferon Cytokine Res.* 20, 331-336.
- 5) Muneta Y. et al. (2001). Efficient production of biologically active porcine interleukin-18 by co-expression with porcine caspase-1 using a

baculovirus expression system. J. Interferon Cytokine Res. 21, 125-130.

- 6) Muneta Y. et al. (2002). Expression of interleukin-18 by porcine airway and intestinal epithelium. J. Interferon Cytokine Res. 22, 883-889.
- 7) Muneta Y. et al. (2003). Large-scale production of porcine mature interleukin-18 (IL-18) in silkworms using a hybrid baculovirus expression system.

J. Vet. Med. Sci. 65, 219-223.

6. 謝 辞

本講演の内容に含まれる研究の大部分は動物衛生研究所・前免疫研究部長・横溝祐一博士（故人）のご指導のもとに行われたものです。この場をお借りして厚く御礼申し上げるとともに、故人のご逝去に心からお悔やみ申し上げます。