

Title	Alveolar Macrophages Are the Primary Interferon- $\alpha$ Producer in Pulmonary Infection with RNA Viruses
Author(s)	熊谷, 雄太郎
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48870">https://hdl.handle.net/11094/48870</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	くま がい ゆう た ろう 熊 谷 雄 太 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 8 1 7 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Alveolar Macrophages Are the Primary Interferon- $\alpha$ Producer in Pulmonary Infection with RNA Viruses. (肺胞マクロファージは肺への RNA ウイルス感染時における主要なインターフェロン- $\alpha$ 産生細胞である)
論文審査委員	(主査) 教授 審良 静男  (副査) 教授 菊谷 仁 教授 宮坂 昌之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目的]

Type I interferon (IFN) は抗ウイルス免疫応答に重要なサイトカインである。その産生細胞を同定することはウイルスに対する免疫応答を明らかにするのに重要であり、今までにプラズマサイト様樹状細胞 (pDC)、コンベンシヨナル樹状細胞 (cDC) などが、それぞれ Toll 様受容体 (TLR)、RIG-I-like helicase (RLH) を用いてウイルスを認識し、type I IFN を産生することが判明している。しかしながら、これらは主に *in vitro* で示されたことであり、*in vivo* における type I IFN 産生細胞は不明であった。我々はこれを明らかにするために、*in vivo* で type I IFN の産生をモニターできるマウスを作製し、産生細胞の同定とその抗ウイルス免疫応答における役割の解明を目指した。

#### [方法ならびに成績]

定法に従い、胚性幹細胞内での相同組換えにより、IFN- $\alpha 6$  をコードするエクソンを green fluorescent protein (GFP) をコードする遺伝子で置き換えたマウス、*Ifna6gfp* マウスを作製した。GFP の発現は IFN- $\alpha 6$  のプロモータによって制御され、その発現は IFN- $\alpha 6$  のみならず他の type I IFN のサブタイプの発現も網羅することが示された。また、paramyxovirus 科の RNA ウイルスである Newcastle disease virus (NDV) の静脈内投与による全身感染をモデルとして *in vivo* での IFN- $\alpha$  産生細胞を調べた。感染後 8、24 時間後に脾臓を回収し、FACS によって解析したところ、pDC、cDC のみならずマクロファージも GFP 陽性になり、これらの細胞が IFN- $\alpha$  を産生することが示唆された。これらの細胞での TLR、RLH の関与を調べるために、*Ifna6gfp* マウスを TLR のアダプター分子である MyD88 および RLH のアダプター分子 IPS-1 を欠損したマウスと掛け合わせ、NDV をそれらのマウスに投与したところ、pDC は TLR 経由、cDC とマクロファージは RLH を経由するシグナル伝達経路によって IFN- $\alpha$  を産生していることが確認された。

次に、自然な感染経路による IFN- $\alpha$  産生細胞を同定するため、NDV の経鼻投与による肺感染をモデルとして用いた。NDV 投与後 24 時間で肺の細胞を調製、GFP 陽性細胞を FACS により観測した。全身感染時とは違い、pDC は IFN- $\alpha$  を産生しないことが示唆された。一方、cDC および脾臓では見られない細胞集団が GFP 陽性になり、これら

の細胞集団が IFN- $\alpha$  を産生することが示唆された。免疫蛍光染色により GFP 陽性な細胞が肺胞内に局在することが示された。これと表面抗原の分布から、IFN- $\alpha$  を産生する脾臓で見られなかった細胞集団は肺胞マクロファージ (AM) であることが示された。

これらの細胞における TLR、RLH の役割を調べるため、MyD88 欠損および IPS-1 欠損 *Ifna6gfp* マウスに NDV を経鼻投与して、肺における GFP の発現を調べた。MyD88 欠損では変化が見られなかったが、IPS-1 欠損マウスにおいては野生型マウスにおいては見られなかった GFP 陽性 pDC が見られ、AM、cDC は GFP を発現しなかった。さらに、AM を特異的に減少させると、pDC が IFN- $\alpha$  を産生し、このとき肺での NDV の量は有意に増加していた。さらに、NDV と同じ paramyxovirus 科の RNA ウイルス、Sendai virus の経鼻投与による肺における IFN- $\alpha$  産生は pDC によることが示された。Sendai virus は AM の *in vitro* での IFN- $\alpha$  産生を障害するが、pDC からの産生は障害しない。これらをあわせると、RLH に依存した AM による抗ウイルス免疫応答が障害されると、ウイルスの増殖が抑制されず、結果 pDC が応答することが示唆された。

[総括]

*Ifna6gfp* マウスによって、*in vivo* での type I IFN 産生がモニタリング可能になり、*in vitro* の結果の確認のみならず、自然な感染経路における type I IFN 産生細胞の同定を行うことができた。この結果は、このレポーターマウスの有用性と、*in vivo* での自然な感染経路を研究する重要性とを示している。肺への RNA ウイルスの感染においては AM、cDC など RLH を用いる細胞群が第一線の抗ウイルス免疫応答を担い、それが破綻すると pDC が TLR を用いて応答を行う、という多層的な免疫応答システムの存在が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

I 型インターフェロン (type I IFN) は抗ウイルス免疫反応に重要なサイトカインである。IFN 産生細胞として、ウイルスを Toll 様受容体 (TLR) を介して認識するプラズマサイト様樹状細胞 (pDC) が同定された。一方、近年 RIG-I 様ヘリケース (RLH) といわれる一連の受容体を介してコンベンショナル樹状細胞 (cDC) がウイルスを認識し、type I IFN を産生することも明らかとなった。しかしながら、生体内でのこれらの細胞および受容体の Type I IFN 産生における重要性は明らかとなっていなかった。申請者はその論文において、生体内で IFN- $\alpha$  6 の産生をモニターする系を構築し、NDV の全身感染において pDC が TLR により、cDC およびマクロファージが RLH によってウイルスを認識し、IFN- $\alpha$  を産生することを明らかとした。また、肺への感染においては pDC ではなく肺胞マクロファージ (AM) が RLH 依存的にウイルスを認識、IFN- $\alpha$  を産生する主要な細胞であることを同定した。さらに、AM が肺における抗ウイルス免疫応答に重要であることも示した。これらの知見は新規かつ重要なものであり、学位に値すると考える。