

赤澤諭 論文内容の要旨

主 論 文

Haploinsufficiency of interferon regulatory factor 4 strongly protects against autoimmune diabetes in NOD mice

IRF4 遺伝子ヘテロ欠損 NOD マウスは、自己免疫性糖尿病が高度に抑制される

赤澤諭、古林正和、厨源平、堀江一郎、Liping Yu、山崎浩則、沖田実、永山雄二、
松山俊文、Masoud Akibari、由井克之、川上純、阿比留教生

(Diabetologia. in press.)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学専攻
(主任指導教員：川上純教授)

緒 言

Interferon regulatory factor 4 (IRF4)は、多様な免疫担当細胞の分化成熟に重要なパイオニア転写因子であり、CD4⁺ (ヘルパー) T細胞(Th2/Th9/Th17/Tfh)・B細胞・一部の樹状細胞の分化や、CD8⁺T細胞の活性化維持に重要であると報告されている。これまで、複数の自己免疫疾患のモデルマウスにおいて、IRF4 遺伝子を欠損すると疾患抵抗性を示すことから、病態への関与が報告されてきたが、1型糖尿病病態への関与については明らかにされていない。近年、感染免疫の分野において、抗原によるCD8⁺T細胞活性化の過程で、抗原ペプチドとT細胞受容体との親和性が、IRF4発現量を規定し、IRF4用量依存性にT細胞のクローナル増殖が誘導されることが報告された。このことは、IRF4が、免疫細胞の受容体刺激の程度を感知し、適切な分化・増殖を誘導する“翻訳転写因子”として重要な役割を果たしていることを示唆している。本研究では、1型糖尿病のモデルマウスであるNODマウスを用いて、IRF4遺伝子ホモ欠損・ヘテロ欠損・野生型NODマウスを作製し、IRF4の段階的な発現量の違いが、自己免疫性糖尿病の病態に与える影響について検討した。

対象と方法

C57BL/6 IRF4欠損マウスを、1型糖尿病モデル;NODマウスに、戻し交配を繰り返し、

speed congenic 法により第 15 世代で、IRF4 遺伝子ホモ欠損 NOD マウス (*Irf4*^{-/-}NOD) ・ヘテロ欠損 NOD マウス (*Irf4*^{+/-}NOD) ・野生型 NOD マウス (WTNOD) を作製した。初めに、各群における累積糖尿病発症率・膵島炎レベル・インスリン自己抗体 (IAA) 発現を検討した。次に、フローサイトメトリーによる解析にて、各群の T 細胞と樹状細胞における IRF4 の発現量を測定し、脾臓・膵リンパ節のリンパ球数および分画頻度を解析した。脾臓由来リンパ球では、メモリー T 細胞分画 (CD44⁺CD62L⁺CD4⁺/ CD44⁺CD62L⁻CD4⁺)、制御性 T 細胞分画 (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺/ CD4⁺)、活性化刺激後の IL-17/IFN γ 産生 CD4⁺ T 細胞、Granzyme B/Perforin 産生 CD8⁺ T 細胞の比率を解析した。脾臓由来樹状細胞では、CD4⁺I-A^{g7+}CD11c⁺、CD8⁺I-A^{g7+}CD11c⁺分画、および、鼠径リンパ節における migratory-樹状細胞 (I-A^{g7hi}CD11c⁺) の比率を解析した。最後に、各群のマウスの脾細胞より分離した CD4⁺ T 細胞と CD8⁺ T 細胞を、制御性 T 細胞を除去後に NOD-SCID マウスに養子移入し、レシピエントマウス群の糖尿病進展を検討した。

結 果

CD4⁺ T 細胞・CD8⁺ T 細胞・樹状細胞における IRF4 の発現量は、WTNOD/*Irf4*^{+/-}NOD/*Irf4*^{-/-}NOD において段階的に低下しており、遺伝子用量依存性であった。*Irf4*^{-/-}NOD では、脾臓や膵リンパ節において、顕著なリンパ球数増多 (T 細胞/B 細胞) を認めたが、*Irf4*^{+/-}NOD では WTNOD と同等であった。*Irf4*^{-/-}NOD では糖尿病・膵島炎・IAA とも完全に抑制された。また、興味あることに、*Irf4*^{+/-}NOD においても、自己免疫性糖尿病、IAA は完全に抑制され、膵島炎も WTNOD と比較し高度に抑制された。*Irf4*^{-/-}NOD の脾臓由来リンパ球の phenotype は、CD4⁺ T 細胞において、ナイーブ/メモリー T 細胞分画減少・IL17 産生細胞分画減少を認め、CD8⁺ T 細胞では、Granzyme B/Preforin 産生細胞分画の減少を認めたが、*Irf4*^{+/-}NOD では WTNOD と同等であった。制御性 T 細胞の比率は、IRF4 遺伝子容量に依存し段階的に低下した。樹状細胞では、*Irf4*^{-/-}NOD にのみ、脾細胞の CD4⁺DC (CD4⁺I-A^{g7+}CD11c⁺) の比率の上昇、CD8⁺DC (CD8⁺I-A^{g7+}CD11c⁺) の低下が認められた。一方、鼠径リンパ節の migratory-樹状細胞の比率は、WTNOD、*Irf4*^{+/-}NOD、*Irf4*^{-/-}NOD の順に、段階的に低下していた。養子移入実験系では、レシピエントマウスでの、移入後の糖尿病誘導は、ドナー T 細胞の IRF4 の欠損により、用量依存性に抑制されていた。

考 察

本研究により、IRF4 遺伝子欠損 NOD マウスでは、ホモ欠損だけでなくヘテロ欠損においても、自己免疫性糖尿病発症が完全に抑制されることが明らかとなった。IRF4 発現量は、用量依存性に T 細胞のエフェクター機能や樹状細胞の migratory 機能を調整しており、疾患感受性に強く関連している可能性が示唆された。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。