

主論文の要旨

Interleukin-19 acts as a negative autocrine regulator of activated microglia

（ インターロイキン-19 は活性化ミクログリアの自己抑制性制御因子として
作用する ）

名古屋大学大学院医学系研究科 細胞情報医学専攻
高次神経統御学講座 神経免疫学分野

（指導：錫村 明生 教授）

堀内 浩

【目的】

アルツハイマー病 (AD) や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) をはじめとした神経変性疾患は、中枢神経系において特定の神経細胞が慢性進行性に変性脱落する疾患である。変性した神経細胞の周囲において、中枢神経系の自然免疫担当細胞であるミクログリアの活性化が認められることから、ミクログリアが引き起こす神経炎症が病態進行において重要であると考えられている。ミクログリアは活性化することで神経保護因子を放出する一方、過剰な活性化を受けると神経傷害因子を放出し、神経細胞死を引き起こす。すなわち、神経変性疾患の治療戦略においてミクログリアの過剰な活性化を抑制することが重要である。そこで、ミクログリアの過剰な活性化のメカニズム解明を目的として本研究を行った。

【方法】

全ての動物実験は、動物愛護の観点より、名古屋大学動物実験委員会の指針に則して行った。実験には C57BL/6J マウスあるいは IL-19 欠損マウスの胎仔由来の初代培養神経細胞、ミクログリアおよびアストロサイトを用いた。また、アルツハイマー病モデルとしてヒト変異アミロイド前駆タンパク/プレセニン 1 トランスジェニック (APP/PS1 Tg) マウスを用いた。mRNA 発現を cDNA microarray および定量 PCR、また、タンパク発現を Western blotting および ELISA により測定した。

【結果】

単離したミクログリア初代培養に代表的な活性化刺激であるリポ多糖 (lipopolysaccharide: LPS) を投与し、ミクログリアの活性化に伴って発現変化する遺伝子を cDNA microarray を用いて網羅的に探索した。その結果、LPS 投与によって最も発現増加を示した遺伝子として interleukin-19 (IL-19) を同定した。そこで、中枢神経系における IL-19 の役割について検討した。まず、LPS 投与による IL-19 mRNA の発現変化について定量 PCR を用いて再確認した。その結果、投与 6 時間後を極値とした IL-19 の発現増加が認められた (Fig. 1A)。IL-19 産生量の変化について ELISA を用いて検討したところ、経時的な IL-19 産生量の増加が認められた (Fig.1B)。したがって、ミクログリアは LPS 処置によって IL-19 を産生することが明らかとなった。次に、神経細胞、アストロサイトおよびミクログリアにおける IL-19 受容体 (IL-20R α および IL-20R β のヘテロダイマーにより構成される) の発現について Western blotting を用いて検討した。その結果、すべての細胞において IL-20R β の発現が認められた一方、IL-20R α の発現はミクログリアにおいてのみ認められたことから、ミクログリアのみが機能的な IL-19 受容体を発現していると考えられた (Fig. 2A)。さらに、これまでに、IL-19 は、signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) のリン酸化を介してシグナルを伝達することが報告されている。そこで、IL-19 処置後の STAT3 のリン酸化について Western blotting を用いて検討した。その結果、LPS 投与 30 分後からのリン酸化が認められた (Fig. 2B)。したがって、ミクログリアが IL-19 のエフェク

ター細胞であることが示された。

これまでに、IL-19 が炎症性サイトカインである IL-6 ならびに tumor necrosis factor- α (TNF- α) の発現を誘導し、炎症性に作用することが報告されている。そこで、ミクログリアにおける IL-19 の炎症性作用について、IL-19 投与後の IL-6 および TNF- α の産生について ELISA を用いて検討した。しかしながら、IL-19 の処置による IL-6 および TNF- α の産生は認められなかった (データ未掲載)。一方、IL-19 は IL-10 family サイトカインであり、IL-19 欠損マウスでは薬剤誘導性大腸炎の著明な増悪を引き起こすことから、IL-19 が IL-10 と同様な抗炎症作用を有する可能性が考えられている。そこで、野生型および IL-19 欠損マウス由来ミクログリア に LPS を投与し、24 時間後の IL-6 および TNF- α 産生量を測定した。その結果、IL-19 欠損マウス由来のミクログリアでは、LPS 処置による IL-6 および TNF- α の産生が増強され、IL-19 の投与により野生型の産生レベルまで抑制された (Fig. 3A, B)。したがって、IL-19 が抗炎症作用を発揮しているものと考えられた。最後に、APP/PS1 Tg マウスにおける IL-19 の発現・産生量の変化について、定量 PCR ならびに ELISA を用いて検討した。その結果、病変部位である海馬領域において、病勢進行に伴った IL-19 の有意な発現および産生の増加を認めた (Fig. 4A, B)。

【考察】

ミクログリアはその活性化に伴って IL-6 や TNF- α に代表される炎症性因子を産生・放出する一方、IL-10 に代表される抗炎症性サイトカインも産生する。本研究の結果から、ミクログリアが活性化に伴って多量の IL-19 を産生することが明らかとなった。先行研究において、活性化したマクローファージが IL-19 を産生することが示されており、本研究結果と矛盾しない。さらに、中枢神経系ではミクログリアのみが IL-19 受容体を発現していることから、活性化ミクログリアによって産生された IL-19 はオートクラインにミクログリアへ作用する可能性が示唆された。

そして、IL-19 欠損によって炎症性サイトカイン産生量が有意に増加し、IL-19 投与によって野生型の産生レベルまで抑制されたことから、IL-19 がミクログリアにおける自己抑制制御因子である可能性が考えられる。しかしながら、その抑制効果が IL-10 などの抗炎症性サイトカインと比べると限定的であったことから、IL-19 は炎症性サイトカインの過剰産生を制御する機能を有する、あるいは、他の未知の機能を担っている可能性が考えられる。

APP/PS1 Tg マウスの病変部において、病勢に伴った IL-19 の発現増加が認められた。これは、IL-19 を発現誘導する内在性リガンドの存在を示唆している。LPS は Toll-like receptor 4 を介してシグナルを伝達することが知られているが、最近、アルツハイマー病において形成される老人斑の主要構成成分であるアミロイド β が内因性のリガンドであるとする報告がなされている。したがって、アルツハイマー病において、アミロイド β がミクログリアの IL-19 産生を誘導し、抗炎症作用を発揮している可能性が考えられる。

【結語】

IL-19 は活性化ミクログリア由来の新規炎症抑制因子であり、ミクログリアにオー
トクライン/パラクラインに作用することで、アルツハイマー病を含めた神経変性疾患
における神経炎症の自己抑制性制御因子として作用している可能性が考えられる。