

令和 2 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2017～2019
課題番号：17K10212
研究課題名(和文)新規IL-1サイトカインによる表皮バリア機能の制御

研究課題名(英文)Regulation of skin barrier function by IL-37

研究代表者

三苦 千景 (Mitoma, Chikage)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：30507778

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：IL-37は紫外線が惹起する皮膚の炎症反応と皮膚バリア機能の破綻を制御しているかどうかを検証した。ヒト皮膚表皮細胞はIL-37とその受容体IL-1R8/IL-18R α を発現し、紫外線照射により細胞内のIL-37蛋白発現が増加した。IL-37は表皮細胞においても紫外線によるIL-6、IL-8、TNF- α などの炎症性サイトカイン産生を抑制した。IL-37は紫外線によるバリア蛋白の発現、matrix metalloproteinase (MMP)ファミリーやセリンプロテアーゼ産生を制御しているかどうかについては一定の傾向がみられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IL-37は紫外線によって生じる過度な炎症を抑えて恒常性を保つ役割を担っていると思われる。そのため、表皮細胞のIL-37を増加させることができる化合物があれば、紫外線防御につながるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：We have investigated whether IL-37 regulates excess inflammation and dysfunctions of skin barrier induced by ultraviolet (UV) exposure. Normal human epidermal keratinocytes (NHEKs) expressed both IL-37 and its receptor IL-1R8/IL-18R α . UV irradiation increased the expression of IL-37 protein in the cytoplasm. IL-37 also inhibited the UV-induced production of pro-inflammatory cytokines, such as IL-6, IL-8, and TNF- α from NHEKs. We could not get certain results suggesting that IL-37 regulates the UV-induced skin barrier destruction, the expression of corneodesmosome and tight junction proteins and the production of serine protease in the NHEKs.

研究分野：皮膚科学

キーワード：皮膚 表皮細胞 炎症反応 IL-37 紫外線 バリア機構

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎など多くの皮膚疾患では皮膚バリア機能異常がみられる。皮膚バリア機能は角質の周辺帯とその下層のコルネオデスマゾームや下流層のタイトジャンクションを構成するバリア蛋白が協調して恒常性が維持されている。Interleukin(IL)-37はIL-1ファミリーに属する新規サイトカインで、血球細胞や樹状細胞では炎症性サイトカインによりその産生が促進し、抗炎症作用を発揮すると報告されている。表皮におけるIL-37の作用は十分に検証されていない。

2. 研究の目的

表皮において炎症を惹起する様々な因子により誘導されたIL-37が、抗炎症作用だけでなく、皮膚バリア機構も制御しているのではないかと仮説をたてた。本研究では皮膚バリア機構のうち、コルネオデスマゾームやタイトジャンクション(tight junction, TJ)バリアに着目し、IL-37の作用を明らかにすることを目的とする。さらにアトピー性皮膚炎モデルマウスに対するIL-37の治療効果を検証する。

3. 研究の方法

培養ヒト表皮細胞(normal human epidermal keratinocyte, NHEK)を用いて、IL-37とその受容体IL-18R/IL-18R alphaの発現、局在を確認する。次いで、表皮細胞におけるIL-37の制御機構を解明するために、炎症性サイトカイン、紫外線やaryl hydrocarbon receptor(AhR)活性を有する化合物など、皮膚バリア機能に影響を及ぼすと報告されている因子の中から、NHEKにおけるIL-37の発現を変動させる因子を同定する。中でも紫外線は皮膚に強く炎症を惹起し、皮膚バリア機構にも影響を及ぼし、アトピー性皮膚炎の治療にも使用されている。そこでNHEKに紫外線を照射し炎症性サイトカインの産生、matrix metalloproteinase(MMP)ファミリーや皮膚バリア形成に重要な役割を果たしているセリンプロテアーゼ、kallikrein(KLK)-5,-7の発現をIL-37がいかに制御しているかを検証する。並行して、培養表皮細胞や3次元皮膚を用いて表皮のコルネオデスマゾームやTJバリア蛋白の発現を半定量化するモデルを作り、紫外線がIL-37を介してこれらのバリア蛋白の発現に影響を及ぼしているかどうかを検証する。

4. 研究成果

NHEKはIL-37とその受容体IL-18R/IL-18Rを発現していた。紫外線照射により細胞内のIL-37蛋白発現が増加し、AhR活性を有する化合物も表皮細胞のIL-37発現を増加する傾向がみられた。次いで、NHEKにおいてIL-37は過剰な炎症反応を抑制する抗炎症作用を有するかどうかを検証した。NHEKに紫外線照射を照射すると炎症性サイ

トカイン (e.g. IL-6、IL-8、TNF-) が産生された。Recombinant IL-37 を NHEK の培地に添加して紫外線を照射してもこれらのサイトカイン産生は抑制されなかったが、small interfering IL-37 (siIL-37) を導入した NHEK に紫外線を照射するとそれらの産生は増加したため、紫外線により誘導される IL-37 が過度な炎症性サイトカインの産生を抑制していることが分かった。Matrix metalloproteinase (MMP) ファミリーやセリンプロテアーゼは皮膚バリア形成に重要な役割を果たしている。次いで、紫外線により誘導される IL-37 が MMP やセリンプロテアーゼ kallikrein (KLK)-5、-7 の発現を変化させるかどうかを検証したところ、紫外線照射により MMP-1, 3, 7, 9, 13 mRNA、KLK5, 7 mRNA の発現が増加するものの、siIL-37 を用いた発現抑制実験にて MMP や KLK5、7 については一定の傾向がみられなかった。

IL-37 のバリア蛋白発現における制御機構を検証するために、siIL-37 で *IL37* 遺伝子をノックダウンした NHEK、および 3 次元培養を行い発現量の半定量化を行う予定だったが、ウエスタンブロット法や免疫染色法でコルネオデスモゾームや TJ 蛋白の半定量化できなかった。このように *in vitro* の実験で一定した結果が得られなかったため、紫外線照射をしたマウス皮膚における発現、その制御については施行を中止した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----