

令和元年6月4日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10160

研究課題名(和文) ヒト表皮角化細胞におけるI B によるIL-17誘導性遺伝子発現制御の解明

研究課題名(英文) IL-17-induced gene expression in human epidermal keratinocytes

研究代表者

藤山 幹子 (Tohyama, Mikiko)

愛媛大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：60263935

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)：皮膚の慢性炎症性疾患である乾癬やアトピー性皮膚炎が異なる病態を示すには、皮膚の最外層を構成する表皮角化細胞がリンパ球の産生するサイトカインに対してそれぞれ異なる反応をすることも関与している。本研究では、疾患により表皮角化細胞の反応性が異なる理由につき、細胞内に存在する分子であるI B に注目して検討を行ない、I B の発現が乾癬の病態形成において重要な役割を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

I B family の1つである核内蛋白のI B が、ヒト表皮角化細胞におけるIL-17による遺伝子発現の制御において必須の因子であり、乾癬の病態において本質的な役割を果たしている可能性を明らかにした。病態形成に必要な分子を明らかにすることは、疾患の病態の理解を深め、新規治療の開発においても有意義である。

研究成果の概要(英文)：In chronic inflammatory skin diseases such as atopic dermatitis and psoriasis, epidermal keratinocytes show different responses against cytokines released by infiltrated lymphocytes, resulting in different pathological conditions. We analyzed roles of I B in IL-17-induced gene expression in epidermal keratinocytes. We elucidated that I B significantly contributes to gene expressions observed in psoriasis lesion skin.

研究分野：皮膚科

キーワード：乾癬 アトピー性皮膚炎 IL-17 Bcl-3 I B

1. 研究開始当初の背景

I κ B family は、NF- κ B の活性を制御する蛋白である。I κ B α は細胞質に存在し NF- κ B の p65、p50 と結合してその活性化を抑制するが、Bcl-3、I κ B ζ は核内に存在し、p65 や p50 と結合して複合体を形成して遺伝子のプロモーターに結合し NF- κ B の活性を抑制する場合と、p50、p65、C/EBPs と複合体を形成し遺伝子の発現を誘導する場合とがある。

我々は最近、Th17 サイトカインの1つである IL-22 が STAT3 を介して表皮角化細胞に Bcl-3 の発現を誘導し、Bcl-3 が p50 と結合することで遺伝子発現を誘導していることを明らかに報告した。IL-22 による遺伝子発現は、STAT3 を介した早期遺伝子発現の経路と、STAT3-Bcl-3 経路を介した後期の遺伝子発現の経路に依存している。IL-22 のシグナルの強弱により、Bcl-3 の発現はコントロールされ、Bcl-3 が十分に発現されたときのみ後期の遺伝子発現が誘導されるというメカニズムがあると考えられる。我々は乾癬病変では IL-22 レセプターの発現が増強し、IL-22 のシグナル経路が増強している可能性を指摘している。実際、乾癬病変表皮では Bcl-3 の発現が核に増強していることを確認しており、Bcl-3 は IL-22 シグナルに関与することで乾癬の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられる。そこで我々は続いて、I κ B ζ の機能に注目した。

上皮系細胞において、I κ B ζ は炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-1、IL-17 により発現が誘導されると報告されている。そこで、研究開始当初は、気道上皮細胞において IL-17 が I κ B ζ の発現を介して human beta-defensin 2(HBD2)の遺伝子発現を誘導することが報告されているが、これまでに表皮角化細胞における IL-17 の I κ B ζ を介した遺伝子発現を検討した報告はなかった。

2. 研究の目的

I κ B family の1つである核内蛋白の I κ B ζ が、ヒト表皮角化細胞における IL-17 による遺伝子発現の制御において必須の因子であること、IL-17 が病態形成に重要である乾癬および IL-17 の関与が急性期と慢性期で異なるアトピー性皮膚炎の病態における I κ B ζ の役割を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

培養ヒト表皮角化細胞および三次元培養皮膚において、アデノウイルスベクターで I κ B ζ を強発現させた系や siRNA でノックダウンさせた系を用いて、IL-17 による I κ B ζ 産生誘導の機序、IL-17 により発現が誘導される遺伝子群における I κ B ζ の関与、IL-17-I κ B ζ 経路による CTACK、RANTES の発現抑制のメカニズムを検討した。さらにアトピー性皮膚炎と乾癬の病変皮膚における I κ B ζ の発現を検討した。

4. 研究成果

(1) IL-17 による I κ B ζ と IL-17 誘導遺伝子の発現の検討

I κ B family の1つである核内蛋白の I κ B ζ が、ヒト表皮角化細胞における IL-17 による遺伝子発現の制御において必須の因子であることを明らかとするために、正常皮膚より分離培養した表皮角化細胞に、各種サイトカインを添加し、time-course で I κ B ζ の mRNA の発現を検討した。I κ B ζ は、IL-17 刺激で特異的に発現が誘導され、mRNA の stability によるものではないことを確認した。次に、培養表皮角化細胞にアデノウイルスベクターにより I κ B ζ を強発現させ、発現が誘導される遺伝子を検討した。乾癬病変部に発現が増強している抗菌ペプチド、サイトカイン、ケモカインの発現が I κ B ζ の強発現で誘導され

ることを確認した。続いて、siRNA を用いて I κ B ζ を表皮角化細胞でノックダウンした。恒常状態での遺伝子発現に与える影響は限局的であったが、IL-17 を添加したとき、表皮角化細胞に発現が誘導される主要な遺伝子の多くで、その発現が抑制された。以上の結果は、IL-17 により誘導される遺伝子発現に I κ B ζ が必須であることを示しており、さらには乾癬の病態における重要性を示唆するものであった。

また、一方で、I κ B ζ のノックアウトマウスではアトピー性皮膚炎様の皮膚炎を自然発症することが報告されている(Shiina, et al. J Biol Chem, 2004)。CTACK の表皮角化細胞に強発現させたマウスでは、やはりアトピー性皮膚炎様病変を生じることが報告されており(Chen, et al. Int Immunol, 2006)、さらにヒトにおいては、アトピー性皮膚炎の病変皮膚に浸潤しているリンパ球は、CCR4 に加え、CTACK と 1 対 1 で対応するレセプターの CCR10 を発現していることが知られている(Islam and Luster, Nature Immunol, 2012)。最近では、アトピー性皮膚炎の病態においても乾癬同様 IL-17 の役割が注目されているが、アトピー性皮膚炎では急性炎症期に IL-17 が検出されるものの、慢性炎症の病変では IL-17 の発現がみられなくなる。アトピー性皮膚炎では、IL-17 による I κ B ζ の発現が何らかの機序により抑制され、CTACK の発現が増強されて慢性の皮膚炎を生じている可能性がある。I κ B ζ は、乾癬とアトピー性皮膚炎という両極端にある疾患への方向性を決定づける因子かもしれない。

しかし、上記検討中に海外から同様の内容で複数の論文報告がなされた。そこで研究内容につき軌道を修正し、これまで我々が検討していた I κ B ζ と同じ核内 I κ B ファミリーの Bcl-3 との相互作用につき検討を進めることとした。

(2) I κ B ζ と Bcl-3 の相互作用について

I κ B ζ は Bcl-3 同様に p50 と結合して遺伝子発現を誘導すると報告されている。そこで、まず I κ B ζ と p50 の結合の有無を検討した。アデノウイルスベクターを用い表皮角化細胞に強発現させた Bcl-3 は p50 と結合したが、同様の方法で強発現させた I κ B ζ と p50 の結合は確認できなかった。また、I κ B ζ と結合して遺伝子発現を制御することが報告されている p50 を、I κ B ζ の強発現系で siRNA を用いてノックダウンし関与を検討したところ、p50 の関与する群と関与しない群があることが明らかとなった。

我々は Bcl-3 が乾癬表皮の全層に強く発現していることを報告したが、I κ B ζ の発現を検討したところ主に表皮上層に認められた。日本人のアトピー性皮膚炎では、IL-17 がある程度関与しており、乾癬類似の病理組織所見をとることがあることが知られているが、このときにも Bcl-3 と I κ B ζ の発現パターンは乾癬に類似していることが明らかになった。以上の結果は、乾癬型組織の形成に、Bcl-3 と I κ B ζ の発現が重要であることが示唆された。一方で、Bcl-3 の活性化を制御する CYLD の発現は、乾癬では減弱していた。この三者の相互作用が乾癬とアトピー性皮膚炎の病態をわけている可能性があると考え、さらに検討中である。

(3) IL-17 誘導遺伝子に関わる I κ B ζ 以外の分子の検討

IL-17 で発現が誘導され、乾癬の病態形成に重要である CCL20 の発現と I κ B ζ の関係に注目して検討を行った。IL-17 による CCL20 の発現は、I κ B ζ の siRNA により完全に抑制されるが、一方で ERK 経路の阻害によっても抑制され、ERK の抑制は I κ B ζ の発現に関与しない。そこで、IL-17 レセプターから ERK 経路の活性化に至る経路を検討し、src family が関与していることを明らかとした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Tohyama M, Shirakata Y, Hanakawa Y, Dai X, Shiraishi K, Murakami M, Miyawaki S, Mori H, Utsunomiya R, Masuda K, Hashimoto K, Sayama K. Bcl-3 induced by IL-22 via STAT3 activation acts as a potentiator of psoriasis-related gene expression in epidermal keratinocytes. Eur J Immunol 査読あり Vol 48, 2018, pp.168-179

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。