

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月24日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590809

研究課題名（和文） 大腸筋線維芽細胞由来 IL-24 を標的とした新たな IBD 治療法開発の基礎検討

研究課題名（英文） Therapeutic approaches targeting colonic myofibroblasts-derived IL-24 in inflammatory bowel disease.

研究代表者

安藤 朗（ANDO AKIRA）

滋賀医科大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90252395

研究成果の概要（和文）：

ヒト大腸筋線維芽細胞を用いた検討からさまざまな炎症性サイトカインのなかでもIL-1 $\beta$ に特に強いIL-24誘導作用を認めた。さらにアデノウイルスを用いてdominant negative c-Junを導入すると、IL-1 $\beta$ の効果は著明に阻害された。また、IL-1 $\beta$ はヒト大腸筋線維芽細胞のMAPキナーゼおよびPI3キナーゼの活性化を誘導し、MAPキナーゼとPI3キナーゼの阻害剤がAP-1の活性化を抑制したことから、IL-1 $\beta$ はMAPキナーゼ、PI3キナーゼの活性化を介したAP-1の活性化を通してIL-24を誘導していることが明らかになった。一方、IL-24の作用の標的となる細胞が何であるかをIL-24Rに対する抗体を用いた免疫染色により検討した。IL-24Rは大腸上皮細胞に恒常的に発現を認め、さらに炎症部位での増強は認められなかった。この結果は上皮細胞株を用いたin vitroの実験でも確認され、上皮細胞をサイトカインで刺激しても発現増強効果は得られなかった。このことから、IL-24の効果発現は腸炎局所においてIL-24の産生量によりコントロールされていることが明らかになった。ヒト大腸上皮細胞にIL-24を添加するとMAPキナーゼ、JAK1/STAT3の活性化が誘導されムチンの産生が誘導された。これまでの結果をまとめると炎症性腸疾患病変粘膜では、IL-1 $\beta$ の刺激に反応してIL-24が筋線維芽細胞から誘導され、そのIL-24は上皮細胞のIL-24Rを介してムチンの産生を誘導することにより防御的な作用を発揮している。すでにヒト型のIL-24が欧米では臨床応用されていることから、今後、炎症性腸疾患の治療薬としてのIL-24の重要性が明らかにされていくものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

we demonstrated that IL-24 expression is enhanced in the inflamed mucosa of active IBD patients. Colonic SEMFs-derived IL-24 appears to play a protective role in the pathophysiology of IBD via a stimulation of STAT3 activation in cells mediating the innate immune response.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,500,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：サイトカイン、炎症性腸疾患、粘膜免疫

### 1. 研究開始当初の背景

未だその免疫的機能がほとんど明らかにされていない IL-24 について、ヒト正常腸粘膜や IBD 病変粘膜における発現を明らかに、さらにその発現誘導機構、生理活性について検討する。

### 2. 研究の目的

IL-24 を標的とした IBD の新たな治療法の可能性について検討することを目的としている。

### 3. 研究の方法

臨床材料（内視鏡下生検材料、手術標本）を用いて病変粘膜組織の IL-24 発現細胞の動態を免疫組織化学的手法により同定する。すなわち、抗ヒト IL-24 抗体と抗  $\alpha$  SMA 抗体の蛍光二重染色を施行して、炎症性腸疾患 IL-24 発現細胞の数的、質的变化を検討する。さらに、粘膜組織中の IL-24 mRNA 発現をリアルタイム PCR 法にて定量的に解析する。さらに、IL-24 レセプター (IL-20R1/IL-20R2 と IL-22R1/IL-20R2) の発現についても検討を加える。IL-20R1 と IL-22R1 に対する抗体が米国アブカム社より入手可能で、この抗体を用いた免疫組織染色により正常、炎症性腸疾患病変粘膜における IL-24R の発現について検討する。IL-24 と同様に IL-24R の mRNA 発現に関してもリアルタイム PCR 解析を加える。

### 4. 研究成果

IL-24 の効果発現は腸炎局所において IL-24 の産生量によりコントロールされていることが明らかになった。ヒト大腸上皮細胞に IL-24 を添加すると MAP キナーゼ、JAK1/STAT3 の活性化が誘導されムチンの産生が誘導された。これまでの結果をまとめると炎症性腸疾患病変粘膜では、IL-1  $\beta$  の刺激に反応して IL-24 が筋線維芽細胞から誘導され、その IL-24 は上皮細胞の IL-24R を介してムチンの産生を誘導することにより防御的な作用を発揮している。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Aomatsu T, Imaeda H, Matsumoto K, Kimura E, Yoden A, Tamai H, Fujiyama Y, Mizoguchi E, Andoh A. Faecal chitinase 3-like-1: a novel biomarker of disease activity in paediatric inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011 Aug 16. [Epub ahead of print]
2. Osaki R, Imaeda H, Ban H, Aomatsu T, Bamba S, Tsujikawa T, Sasaki M, Fujiyama Y, Andoh A. Accuracy of genotyping using the TaqMan PCR assay for single nucleotide polymorphisms responsible for thiopurine sensitivity in Japanese patients with inflammatory bowel disease. *Exp. Ther. Med.*, 2011 2(5):783-786 Epub 2011 June 8
3. Imaeda H, Andoh A, Aomatsu T, Uchiyama K, Bamba S, Tsujikawa T, Naito Y, Fujiyama Y. Interleukin-33 suppresses Notch ligand expression and prevents goblet cell depletion in dextran sulfate sodium-induced colitis. *Int. J. Mol. Med.*, 2011 July;28(4):573-578 Epub 2011 June 8.

[学会発表] (計 2 件)

1. Andoh A. Molecular analysis of the diversity of gut microbiota of IBD. 5<sup>th</sup> Japan-Korea IBD symposium (Seoul) October 2, 2010.
2. 安藤 朗. 炎症性腸疾患の病態と腸内細菌の関わり。第 13 回日本臨床腸内細菌学会学術集会教育講演。埼玉。平成 22 年 9 月 11 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安藤 朗 (ANDO AKIRA)

滋賀医科大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90252395

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：