



IL-13 regulates IL-17C expression by suppressing NF- κ B-mediated transcriptional activation in airway epithelial cells

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-05-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山中, 勝正 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3349

博士(医学) 山中 勝正

論文題目

IL-13 regulates IL-17C expression by suppressing NF- κ B-mediated transcriptional activation in airway epithelial cells

(IL-13 は気道上皮細胞において NF- κ B を介した転写活性化を抑制することにより IL-17C の発現を調節する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

Interleukin (IL)-17 サイトカインファミリーは、A-F の 6 つのサブセットから構成され、種々の疾患病態において炎症促進に関わるサイトカインである。IL-17C は主に上皮組織で発現し、自然免疫や感染防御への関与が示唆されている。また、IL-17C は上皮細胞やケラチノサイトに存在する IL-17RA/RE のレセプター複合体に結合し、オートクライン機序により下流のシグナルを活性化させる。これまでの研究で、IL-17C は腸管上皮において感染防御に重要な役割を果たすことが示されている。

気道上皮細胞は、肺組織において病原微生物と最初に接触する生理的防御器官で、サイトカイン、ケモカイン、抗菌ペプチド等を産生して自然免疫を惹起し、獲得免疫応答を調節する。IL-17C は、腸管上皮だけでなく気道上皮において発現することが報告されている。我々は、正常ヒト気管上皮細胞 (normal human bronchial epithelial cells; NHBE) において、toll-like receptor (TLR)3 リガンドで合成 2 本鎖 RNA アナログである polyI:C は、nuclear factor (NF)- κ B 経路を介して IL-17C 発現を誘導することを見出した。さらに、気道上皮で発現誘導された IL-17C は、オートクライン機序により granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), human beta-defensin (hBD)2, S100A12 等の炎症性サイトカインや抗菌ペプチドの発現を増強して、気道の生体防御に寄与することを報告した (*Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014)。

しかしながら、気道上皮における IL-17C の発現制御に関わる因子や細胞内機序は、未だ十分に解明されていない。特に、慢性閉塞性肺疾患や気管支喘息など慢性気道疾患の病態形成に関連するサイトカイン (IL-1 β , IL-13) による IL-17C の発現制御については、これまでほとんど検討されていない。そこで、本研究は、気道上皮細胞においてサイトカインによる IL-17C 発現制御とその細胞内メカニズムを解明することを目的とした。

[材料ならびに方法]

NHBE 初代培養系、気管支上皮細胞株 (HBE1) を用いて、IL-1 β ならびに IL-13 刺激による IL-17C の mRNA 及びタンパク質発現の程度を、real-time PCR 法と Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) 法で検討した。siRNA (NF- κ B, transcription 6 (STAT6))、経路特異的阻害剤 (Janus kinase (JAK)/阻害剤; ruxolitinib) を用いて、サイトカインによる IL-17C 発現制御に関わる細胞内経路を解析し、ウェスタ

ンブロット法にて各種転写因子のリン酸化・核内移行を検討した。クロマチン免疫沈降法を用いて、IL-17C プロモーターと NF- κ B の結合に対する IL-1 β と IL-13 の作用を解析した。

[結果]

IL-1 β は、NHBEにおけるIL-17CのmRNA、タンパク質発現を濃度依存的に誘導した。また、IL-13は、IL-1 β によるIL-17C発現誘導を濃度依存的に抑制した。NF- κ Bのサブユニットのひとつであるp65 siRNA トランスフェクションにより、IL-1 β によるIL-17C発現誘導は減弱した。一方、IL-13によるIL-17C発現抑制効果は、STAT6 siRNAならびにruxolitinibにより消失した。

ウェスタンブロット法による検討において、IL-1 β によりI κ B α のリン酸化およびp65の核内移行が誘導された。IL-13添加はSTAT6の核内移行を誘導したが、IL-1 β によるI κ B α のリン酸化・p65の核内移行に影響を与えなかった。

サイトカインによるIL-17Cの転写調節メカニズムについて、IL-17Cプロモーター領域におけるNF- κ Bの結合強度をクロマチン免疫沈降法で解析した。まず、NucleoSeqを用い、IL-17Cプロモーター領域(3.0-kb)における推定NF- κ B結合領域を検索し、3つの領域を同定した。IL-1 β 添加により、転写開始点に近い2領域におけるp65の結合は増強した。一方、IL-13の添加は、IL-1 β による同領域におけるp65の結合増強を抑制した。

[考察]

気道上皮細胞において、前炎症性サイトカインであるIL-1 β はIL-17C発現を誘導し、Th2サイトカインであるIL-13はIL-1 β によるIL-17C発現誘導を抑制した。細胞内経路の解析において、NF- κ B経路はIL-1 β によるIL-17C発現誘導に必須であり、またIL-13によるIL-17C発現抑制はJAK-STAT6経路を介すると考えられた。さらに、IL-13によるIL-17C発現抑制における転写調節機序を解析し、IL-13はIL-1 β により誘導されるIL-17Cプロモーター領域とNF- κ Bの結合強度を減弱させたことから、細胞内レベルでIL-13-JAK-STAT6経路活性化が、標的遺伝子のプロモーターにおけるNF- κ B結合を阻害することが判明し、新規の知見と考えられた。

気管支喘息では、IL-13が病態形成に深く関連するとともに、気道における感染防御能が低下している。本研究で示された気道上皮におけるIL-13によるIL-17C発現抑制は、IL-17Cが生体防御に関与することから、喘息気道における感染防御能の低下に関連していると示唆された。一方、IL-17Cは炎症に促進的に働くとした報告もあり、気道IL-17C発現調節の意義については、疾患モデルマウス等を用いたさらなる検証が重要であると思われる。

[結論]

IL-1 β はNF- κ B経路を介してIL-17C発現を誘導する。また、IL-13はJAK-STAT6経路を介し、IL-17C遺伝子のプロモーター領域におけるNF- κ Bの結合を減弱させることにより、気道上皮におけるIL-17C発現誘導を抑制する。