



Synergistic proinflammatory responses by IL-17A and Toll-like receptor 3 in human airway epithelial cells

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2016-05-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 森, 和貴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3004

博士(医学) 森 和貴

論文題目

Synergistic proinflammatory responses by IL-17A and Toll-like receptor 3 in human airway epithelial cells

(ヒト気道上皮細胞における IL-17A と Toll 様受容体 3 による相乗的な前炎症性反応)

論文の内容の要旨

[はじめに]

気管支喘息は気道炎症と、それに引き続く可逆性のある気道狭窄・気道過敏性の亢進を主病態とする炎症性肺疾患である。吸入ステロイド薬を中心とする治療の普及により疾患コントロールは大幅に改善した一方で、治療介入にもかかわらずしばしば急性増悪(喘息発作)をきたし加療を必要とする重症喘息患者も存在する。

気管支喘息発作の誘因として様々なものが知られるが、ウイルス性気道感染を契機とした喘息発作は実臨床において最も多く経験される。気道上皮は、異物に対する物理的バリア器官として感染防御を担うと同時に、気道感染において Toll 様受容体 (TLRs) などのパターン認識受容体を介して種々の遺伝子発現(炎症性サイトカイン・ケモカイン・抗菌ペプチド)を誘導して自然免疫系を活性化する。ウイルス感染に対する自然免疫応答として気道上皮がもたらす気道炎症が、喘息発作に関連すると考えられるが、その詳細な機序は明らかになっていない。

一方で、主にヘルパーT (Th) 17 細胞より産生される前炎症性サイトカインである IL-17A は、上皮細胞において炎症性サイトカインやケモカインの発現を誘導し、好中球遊走を惹起して気道炎症に関与する。重症気管支喘息患者の一部では、誘発痰や血清中における IL-17A が増加していることが報告されており、好中球性気道炎症との関連が示唆されている。好中球性気道炎症は吸入ステロイドを主体とする既存の治療への不応性をもたらす喘息難治化の一因となることが知られている。

以上より、ウイルス感染と IL-17A はともに気道炎症を惹起し、特に IL-17A が増加している重症気管支喘息においては、両者が協調的に作用して気道炎症を促進することが推測されるが、その機序は解明されていない。本研究では、TLR3 のリガンドである polyI:C と IL-17A による気道炎症促進における相互作用と、そのメカニズムを解析することを目的とした。

[材料ならびに方法]

正常ヒト気管上皮初代培養細胞およびヒト気道上皮細胞株の BEAS-2B を用いて、polyI:C 刺激、IL-17A 刺激および IL-17A / polyI:C 共刺激による炎症性サイトカイン、ケモカインの mRNA、タンパク質発現の程度を real-time PCR 法、ELISA 法で解析した。PolyI:C と IL-17A の相互作用に関わる細胞内機序を解析するため、タンパク質合成阻害剤および核酸転写阻害剤を用いて転写後の調節機構の関与を評価した。続いて、転写調節に関わる機序として TLR3 およびその下流に位置する2つの転写因子

(NF- κ B、IRF3) 経路に着目し、特異的阻害剤および siRNA によるそれらの経路阻害が炎症性サイトカインの発現に及ぼす影響を解析した。あわせて、両経路の活性化を Western blotting 法で検討した。

[結果]

PolyI:C 刺激は、炎症性サイトカイン・ケモカイン (G-CSF、IL-8、CXCL1、CXCL5、IL-1F9) の mRNA 発現を誘導した。IL-17A / polyI:C 共刺激はこれらの発現を相乗的に誘導したが、IFN- α 1、- β の発現には影響を与えなかった。タンパク質レベルにおいても、IL-17A / polyI:C 共刺激は polyI:C による G-CSF、IL-8 の産生を相乗的に増加させた。転写後の調節機構に関する解析では、IL-17A / polyI:C 共刺激による相乗的な G-CSF、IL-8 発現誘導において、二次的なタンパク質合成や mRNA の安定性変化の関与は認められなかった。特異的阻害剤や siRNA を用いた NF- κ B 経路および IRF3 経路の阻害により、polyI:C による G-CSF、IL-8 の誘導と IL-17A / polyI:C 共刺激による相乗的発現誘導は減弱した。IL-17A / polyI:C 共刺激と polyI:C 単独刺激による mRNA 誘導の比率は、NF- κ B をノックダウンした場合、G-CSF、IL-8 の両方で有意に低下した。一方、IRF3 のノックダウンでは IL-8 の mRNA 誘導比は低下したが、G-CSF の誘導比は低下しなかった。Western blotting では、polyI:C 刺激および IL-17A / polyI:C 共刺激により I κ B- α と IRF3 がリン酸化されることが確認され、I κ B- α のリン酸化は polyI:C 単独刺激と比較して IL-17A / polyI:C 共刺激で有意に増強した。

[考察]

TLR3 のリガンドである polyI:C の刺激は気道上皮細胞において炎症性サイトカインやケモカインの発現を誘導し、これらの発現は IL-17A との共刺激で相乗的に誘導されることが示された。NF- κ B、IRF3 に対する特異的阻害剤および siRNA によるノックダウンの結果、両経路とも polyI:C 刺激および IL-17A / polyI:C 共刺激による炎症性サイトカインの発現誘導に不可欠であった。また、Western blotting の結果、IL-17A / polyI:C 共刺激により、I κ B α リン酸化は polyI:C 単独刺激と比較して増強されており、共刺激による相乗的な発現誘導には、NF- κ B の活性化がより重要な役割を果たしていると考えられた。相乗的発現誘導の詳細な機序としては転写因子のプロモーター領域への結合の変化やクロマチン・リモデリングなどが想定され今後の検証が必要である。

本研究により気道上皮において、IL-17A の存在はウイルス感染により引き起こされる気道炎症を相乗的に促進することが示された。これは特に、IL-17A の増加した重症喘息病態において、ウイルス性気道感染が容易に喘息急性増悪を惹起する機序に深く関連するものと考えられた。この相乗的な炎症性サイトカインの誘導を抑制することは、喘息発作を抑制するための治療ターゲットになり得ると考えられた。

[結論]

PolyI:C 刺激による TLR3 の活性化と IL-17A の刺激は、気道上皮細胞において NF- κ B 経路および IRF3 経路の活性化を通じて、相乗的に前炎症性サイトカインを誘

導する。