



IL-17A attenuates IFN- λ expression by inducing suppressor of cytokine signaling expression in airway epithelium

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-05-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 丹羽, 充 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003541

博士（医学） 丹羽 充

論文題目

IL-17A attenuates IFN- λ expression by inducing suppressor of cytokine signaling expression in airway epithelium

（気道上皮において IL-17A はサイトカインシグナル抑制因子発現の誘導を介して IFN- λ 発現を減弱する）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

気道上皮は病原微生物に対してサイトカイン・ケモカインなどを産生し、自然免疫および獲得免疫系を調節する。インターフェロン（IFN）は抗ウイルス反応の中心的な役割を担うサイトカインであり、III 型 IFN である IFN- λ は主に上皮細胞から産生される。IFN- λ 受容体（IFNLR）もまた上皮細胞に発現しており、IFN- λ はオートクライン機序により粘膜局所のウイルス感染防御の主役を担う。

前炎症性サイトカインであるインターロイキン（IL）-17A は、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患（COPD）などの慢性気道疾患の病態形成やその難治化・重症化において主要な役割を果たしている。重症喘息患者から得られた喀痰および気管支生検検体では高レベルの IL-17A が検出され、IL-17A は好中球性気道炎症やステロイド抵抗性と関連している。また、重度の COPD 患者では、肺組織における IL-17A 発現の増加と肺機能低下の関連が報告されている。

気管支喘息や COPD 患者において、気道上皮における IFN- λ 発現は減弱しており、ウイルス感染の長期化や症状の重篤化と関連する。しかし、IFN- λ 発現の減弱に関わる詳細な機序は未だ解明されていない。本研究では、気道上皮におけるウイルス感染による IFN- λ 発現誘導の細胞内機序を解明すると共に、慢性気道疾患の難治化に関わる IL-17A に着目して、IL-17A による IFN- λ 発現の減弱作用を同定し、その分子機構を解明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（NHBE）初代培養細胞を用いて、Toll 様受容体（TLR）3 リガンドである polyI:C ならびに A 型インフルエンザウイルス（IAV）感染による IFN- λ 発現誘導を解析した。IFN- λ mRNA の定量には real time PCR 法を、培養上清中のタンパク質発現の定量には ELISA 法を用いた。IL-17A を polyI:C または IAV と共添加して、IL-17A による IFN- λ 発現の減弱作用を同定した。polyI:C および IAV は TLR3 で認識され、その下流シグナルとして NF- κ B 経路および IRF3 経路が知られる。IFN- λ 発現における NF- κ B 経路・IRF3 経路の関与につき、p65 と IRF3 を siRNA でノックダウンし、IFN- λ 発現の変化を解析した。次に、IFN- λ 発現誘導におけるオートクライン機序を明らかにすべく、IFNLR とその下流シグナルである Janus キナーゼ（JAK）/ シグナル伝達性転写因子（STAT）経路を

siRNA および特異的阻害剤で抑制し、IFN- λ 発現を解析した。polyI:C 単独添加ならびに polyI:C/ IL-17A 共添加における細胞内シグナル分子や転写因子のリン酸化につき、ウエスタンブロット法を用いて検出した。Suppressor of cytokine signaling (SOCS) family は JAK-STAT 経路の抑制性タンパク質として知られている。NHBE における SOCS family 発現に対する polyI:C、IL-17A の作用を解析し、また IFN- λ 発現調節における SOCS の関与を、siRNA を用いて解析した。IL-17A による IFN- λ 発現抑制が IL-17 受容体を介する作用であるか同定するため、受容体中和抗体を用いて IFN- λ 発現を解析した。

[結果]

polyI:C は NHBE における IFN- λ 発現を mRNA レベルおよびタンパク質レベルで誘導し、IL-17A は polyI:C による IFN- λ 発現を有意に抑制した。同様に、IAV 感染は IFN- λ 発現を誘導し、IL-17A は IAV 感染による IFN- λ 発現誘導を抑制した。p65 および IRF3 のノックダウンにより、polyI:C による IFN- λ 発現は早期より減弱した。IFNLR siRNA ならびに JAK 阻害剤は、polyI:C による IFN- λ 発現を 24 時間以降で有意に減弱した。Western blot 法による解析では、polyI:C は添加後 6 時間より STAT1 のリン酸化を惹起したが、IL-17A 添加は、polyI:C による STAT1 リン酸化を添加後 24 時間以降で有意に抑制した。SOCS family 発現の解析では、IL-17A / polyI:C 共添加により SOCS1 および SOCS3 の発現が増強した。siRNA を用いた SOCS1 および SOCS3 のノックダウンにより、IL-17A による IFN- λ の発現抑制作用は部分的に消失した。IL-17 受容体中和抗体の添加は、IL-17A による IFN- λ 発現抑制作用を部分的に消失させ、また polyI:C / IL-17A 添加による SOCS1、SOCS3 発現の増加作用を抑制した。

[考察]

本研究において、IL-17A は polyI:C および IAV 感染による気道上皮における IFN- λ 発現誘導を抑制することを明らかにした。polyI:C による IFN- λ 発現における細胞内経路には、NF- κ B・IRF3 の活性化、IFNLR-JAK-STAT 経路を介したオートクライン機序が関与していた。また、IL-17A は、IL-17 受容体を介して気道上皮の SOCS1・SOCS3 発現を誘導し IFNLR-JAK-STAT 経路を抑制して、IFN- λ 発現を減弱させた。

ウイルス感染は喘息発作や COPD 急性増悪の主要な原因である。気道の IFN- λ 発現低下はウイルスに対する免疫反応を減弱させ、慢性気道疾患における易感染性の一因となる。本研究により、ウイルス感染時の気道上皮における IFN- λ 発現メカニズムと、IL-17A による IFN- λ 発現の減弱作用の詳細な機序が示された。IL-17A が病態形成に関わる重症喘息や COPD において、気道 IFN- λ の発現を回復させることは、宿主の感染防御能を維持して、ウイルス性気道感染やそれに伴う急性増悪の抑制に通じる。本研究により、気道上皮における IL-17A 刺激の遮断や SOCS1 / SOCS3 発現の抑制は、重症喘息や COPD における気道 IFN- λ

発現を回復させ、ウイルス感染による増悪を抑制しうる新たな治療ターゲットになると考えられる。今後、マウスモデルを用いた *in vivo* の実験系で、IL-17A の気道 IFN- λ 産生に及ぼす作用について検証を進めていきたい。

〔結論〕

IL-17A は、SOCS 発現の誘導を介して気道上皮における IFN- λ のオートクライン機序により活性化される JAK-STAT 経路を抑制して、ウイルス感染による IFN- λ 発現を減弱させる。