

氏 名	東 野 正 明
(ふりがな)	(ひがしの まさあき)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第 号
学位審査年月日	平成 24年 1月 23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題名	Interleukin-19 Downregulates Interleukin-4-Induced Eotaxin Production in Human Nasal Fibroblasts (インターロイキン 19 は、ヒト鼻線維芽細胞において インターロイキン 4 が誘導したエオタキシンの産 生を抑制する)
論文審査委員	(主) 教授 朝 日 通 雄 教授 吉 田 龍 太 郎 教授 森 脇 真 一 教授 田 窪 孝 行

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《背景と目的》

インターロイキン (IL) -10 は IgE 抗体や Th1、Th2 細胞のサイトカイン産生を抑制する作用を有し、様々な細胞において重要な働きをしていることが知られている。一方、IL-19 は IL-10 の構造上相同性を有し、IL-10 ファミリーとして、炎症を引き起こすサイトカインを抑制するという特徴をもっている。IL-19 は細胞膜上の IL-20 レセプター1 (R1) と IL-20 レセプター2 (R2) を介して JAK キナーゼを活性化、STAT3 をリン酸化し、リン酸化された STAT3 が核内へ移行することで、遺伝子発現を誘導するといわれている。そこで、我々はアレルギー性鼻炎の局所での炎症の制御において、IL-19 がどのような役割を担っているのかを検討した。

《対象と方法》

アレルギー性鼻炎 6 名の患者に対して下鼻甲介切除を施行した下鼻甲介組織およびその組織から初代培養した線維芽細胞を材料とした。

① 下鼻甲介組織における IL-19 およびその受容体

下鼻甲介組織を用いて、IL-19 を免疫組織学的に検討した。さらに培養線維芽細胞から mRNA を抽出し、IL-19 の受容体である IL-20R1 と IL-20R2 の存在を RT-PCR で検討した。

② Eotaxin、RANTES の誘導に対する IL-19 の影響

IL-4 やインターフェロンガンマ (IFN- γ) が好酸球遊走因子である eotaxin や RANTES を誘導することが知られているが、その誘導に対して IL-19 がどのように作用するのかを検討した。すなわち、培養線維芽細胞を用いて、IL-19 を作用させて培養細胞上清中の eotaxin および RANTES 濃度を ELISA で測定した。

③ STAT6 のリン酸化に対する IL-19 の影響

IL-4 による STAT6 のリン酸化に対する IL-19 の影響を検討した。すなわち、培養線維芽細胞を用いて、IL-19 を作用させた後に IL-4 を作用させてタンパクを抽出してウェスタンブロット法にて STAT6 のリン酸化を検討した。

④ Suppressors of cytokine signaling(SOCS)に対する IL-19 の影響

サイトカインシグナルを抑制するとされる SOCS に対する IL-19 の影響を検討した。すなわち培養線維芽細胞から mRNA を抽出し SOCS-1、SOCS-3、SOCS-5 産生に対する IL-19 の影響を Real-time PCR を用いて検討した。

⑤ IL-20R2 ノックダウンによる SOCS-1 誘導および SOCS-1 ノックダウンによる eotaxin 誘導の影響

siRNA を導入し、IL-20R2 をノックダウンすることで IL-19 による SOCS-1 の誘導がどのように影響を受けるかを検討した。すなわち siRNA を導入し、IL-20R2 をノックダウンすることで IL-19 による SOCS-1 産生の影響を Real-time PCR を用いて検討した。さらに、SOCS-1 をノックダウンすることで IL-19 による IL-4 誘導の eotaxin

産生の影響について ELISA を用いて検討した。

《結 果》

① 下鼻甲介組織における IL-19 およびその受容体

下鼻甲介粘膜上皮の細胞質および細胞膜に IL-19 の発現を認めた。また、鼻線維芽細胞から IL-20R1 および IL-20R2 の mRNA の発現を認めた。

② Eotaxin、RANTES の誘導に対する IL-19 の影響

IL-4 刺激による eotaxin 誘導は、IL-19 で前処理することによって抑制された。一方、IFN- γ 刺激による RANTES 誘導は、IL-19 で前処理しても抑制されなかった。

③ STAT6 のリン酸化に対する IL-19 の影響

IL-4 による STAT6 のリン酸化は IL-19 で前処理することによって抑制された。

④ SOCS に対する IL-19 の影響

IL-19 を添加することによって、SOCS-1 が有意に誘導されたが、SOCS-3 および SOCS-5 は誘導されなかった。

⑤ IL-20R2 ノックダウンによる SOCS-1 誘導および SOCS-1 ノックダウンによる eotaxin 誘導の影響

IL-19 は SOCS-1 を誘導したが、IL-20R2 をノックダウンすると、その誘導がみられなくなった。また SOCS-1 をノックダウンすると、IL-19 による IL-4 誘導の eotaxin の抑制が消失した。

《考 察》

IL-19 は様々な細胞において、その抗炎症作用が報告され、IL-19 のシグナル経路は細胞の種類によって異なっている。まず鼻粘膜上皮における IL-19 の発現とそのレセプターである IL-20R1 および IL-20R2 の発現を確認し、またアレルギー性炎症の活性物質である eotaxin に注目し、IL-4 によって誘導される eotaxin を IL-19 が抑制することがわかった。したがって、アレルギー性鼻炎の炎症過程においても IL-19 が重要な役割を担っていると

考えられたため、さらに下鼻甲介組織を用いて IL-19 のシグナル経路について検討した。IL-19 が eotaxin を抑制する過程を解明するため、SOCS および STAT6 に着目し、SOCS-1 の誘導および STAT6 のリン酸化抑制が関与していることを示した。すなわち、IL-19 はアレルギー性鼻炎において、SOCS や STAT6 を介する eotaxin 産生を抑制することによって好酸球性炎症を抑制する役割を担っていると示唆された。これらの事実は IL-19 の作用や役割を明らかにするとともに、アレルギー性鼻炎における好酸球性炎症の解明につながるものと考えられる。

(様式 乙9)

論文審査結果の要旨

アレルギー性鼻炎は国民の約 30%に認める疾患であり、年々増加傾向にある。その病態の 1つとされている好酸球性炎症に対して、抑制系サイトカインの存在が重要視され、近年様々な研究が報告されている。申請者は抑制系サイトカインの中で IL-19 に着目し、アレルギー性鼻炎患者の下鼻甲介粘膜切除術にて採取した組織および同組織から樹立した初代線維芽細胞を用いて検討をしている。

まず、申請者は IL-19 のレセプターである IL-20R1 と IL-20R2 が下鼻甲介粘膜上に存在し、IL-19 が鼻粘膜上皮に存在することを RT-PCR および免疫組織学的検討で確認した。次に鼻線維芽細胞において IL-19 で前処置することにより、IL-4 により誘導される好酸球遊走因子である eotaxin の産生が抑制することを明らかにした。IL-4 シグナルは JAK-1 と JAK3 を活性化し、STAT-6 をリン酸化することで、核内の遺伝子を発現しているが、IL-19 はその STAT-6 のリン酸化を抑制し、IL-4 のシグナルを抑制することを明らかにした。また、その抑制されるメカニズムとして、SOCS-1 が強く関与しており、SOCS-1 は IL-19 により誘導されることを示した。また申請者は、IL-20R2 をノックダウンすると IL-19 が SOCS-1 を誘導しなくなり、また SOCS-1 をノックダウンすると IL-4 を介した eotaxin の産生に対する IL-19 による抑制が減少することを確認した。

本研究によって、IL-19 がアレルギー性鼻炎患者の下鼻甲介粘膜において、免疫制御因子としての働いていることが確認されたことは、アレルギー性鼻炎の病態の解明につながる可能性がある。

以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Allergology International 60(4): 449-457, 2011