

| | |
|---------|---------------------|
| 氏名(本籍) | 藤田純一 (茨城県) |
| 学位の種類 | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 博甲第6623号 |
| 学位授与年月日 | 平成25年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 審査研究科 | 人間総合科学研究科 |
| 学位論文題目 | 喘息におけるIL-17Fの役割 |
| 主査 | 筑波大学教授 医学博士 二宮治彦 |
| 副査 | 筑波大学准教授 博士(医学) 渋谷和子 |
| 副査 | 筑波大学准教授 医学博士 鬼塚正孝 |
| 副査 | 筑波大学准教授 博士(医学) 揚景堯 |

論文の内容の要旨

(目的)

Interleukin (IL) -17F (Kawaguchi et al. J. Immunol. 2001) は喘息患者の気道で高発現しており、機能喪失を伴う一塩基多型 7488T/C が喘息の罹患感受性、重症化と相関していることが報告されている (Kawaguchi et al. J. Allergy Clin. Immunol. 2006)。また IL-17F は好中球性炎症に関与するサイトカインやケモカインを気道上皮細胞、血管内皮細胞から誘導することを報告してきたが (Kawaguchi et al. J Pharmacol Exp Ther. 2003, Kawaguchi et al. J. Allergy Clin. Immunol. 2004, Kawaguchi et al. J. Allergy Clin. Immunol. 2007 など)、喘息における IL-17F の意義はいまだ不明な点も多い。そこで IL-17F の発現および機能を明らかにし、IL-17F を標的とした診断、治療への臨床応用を目標とした基礎的検討を行った。

① IL-17F は Th17 細胞、好塩基球、肥満細胞、NKT 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞での発現が報告されているが、気道上皮細胞を含めた気道構成細胞からの産生誘導についての報告はない。そこでアレルギー性炎症を誘導することで知られる IL-33 を用いて、気道上皮細胞からの IL-17F 産生誘導について検討した。

②喘息重症化の主要な要因の1つとして気道リモデリング (気道の不可逆的構造変化) が挙げられるが、IL-17F の気道リモデリングにおける役割は詳細不明である。そこで気道リモデリングに関与する IL-11、IGF- I の気道上皮細胞における産生誘導を検討した。

(対象と方法)

① IL-33 にて気道上皮細胞 (BEAS-2B, NHBEs; Normal Human Bronchial Epithelial Cells) を刺激し、IL-17F の発現を real time PCR、ELISA にて検討した。シグナル伝達経路を IL-33 受容体中和抗体、各種 (MEK、p38MAPK、JNK、MSK1) 阻害剤、siRNA (MSK1) を用いたうえで、Western blotting、ELISA にて検討した。

② IL-17F にて気道上皮細胞 (BEAS-2B、NHBEs) を刺激し、IL-11 および IGF- I の発現を RT-PCR、real time PCR、ELISA にて検討した。シグナル伝達経路を各種 (Raf1、MEK、p38MAPK、JNK、MSK1) 阻害剤、dominant negative mutant (Raf1、Ras)、siRNA (MSK1、CREB、p90RSK) を用いて、Western blotting、ELISA にて検討した。

(結果)

① IL-33 刺激にて気道上皮細胞 (BEAS-2B、NHBEs) から IL-17F 産生が認められた。IL-33 は ERK1/2 および MSK1 を活性化した。IL-33 受容体である ST2 中和抗体により、ERK1/2 の活性化は阻害され IL-17F の発現は抑制された。MEK1/2 阻害剤により、ERK1/2 および MSK1 の活性化は阻害され IL-17F の発現は抑制された。MSK1 阻害剤および MSK1 siRNA により、IL-17F の発現は抑制された。

② IL-17F 刺激にて気道上皮細胞 (BEAS-2B、NHBEs) から IL-11、IGF- I 産生が認められた。Raf1 kinase 阻害剤、MEK1/2 阻害剤により、IL-11 および IGF- I の発現は抑制された。Raf1 dominant negative の過剰発現により、IL-11 および IGF- I の発現は抑制された。

IL-17F は MSK1 を活性化し、MEK1/2 阻害剤により抑制された。MSK1 阻害剤および MSK1 siRNA により、IL-11 の発現は抑制された。また IL-17F は CREB を活性化し、MSK1 siRNA により抑制された。CREB siRNA により、IL-11 の発現は抑制された。

MSK1 阻害剤により、IGF- I の発現は抑制された。また p90RSK、MSK1、CREB siRNA により、IGF- I の発現は抑制された。

(考察)

① IL-33 が ST2-MEK1/2-ERK1/2-MSK1 経路を介して気道上皮細胞から IL-17F を産生誘導することが明らかとなった。IL-33 が IL-17F の誘導因子であり、IL-17F を介したアレルギー性気道炎症に関与する可能性が示唆された。② IL-17F により気道上皮細胞から IL-11、IGF- I が産生誘導されることが判明した。またその経路として IL-11 は Raf1-MEK1/2-ERK1/2-MSK1-CREB が、IGF- I は Ras-Raf1-MEK1/2-ERK1/2-MSK1/p90RSK-CREB が関与することが判明した。これらのことより IL-17F が IL-11、IGF- I 産生誘導を介して、気道リモデリングに関与している可能性が示唆された。IL-17F の発現および気道リモデリングに関わる機能的役割について詳細な検討を行った。これらの研究結果より喘息の病態であるアレルギー性気道炎症における IL-17F の意義が明らかとなった。今後は IL-17F を標的とした臨床応用への発展が期待される。

審査の結果の要旨

1. 気道上皮細胞における IL-17F の産生を証明し、炎症性サイトカインがその産生を刺激することを初めて明らかにし、その刺激伝達機構の少なくとも一部を明らかにしている。
2. IL-17F の産生が好中球による炎症と気道の理モデリングに関与していることを明らかにしており、喘息の重症化や副腎皮質ステロイドに抵抗性のある症例に対する、新規治療法を開発するにあたっての基礎的知見を提供している。

平成 24 年 12 月 28 日、博士 (医学) 学位論文審査専門委員会において審査委員全員の出席のもとに最終試験を行い、論文について説明をもとめ、関連事項について質疑応答を行った結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。