



【背景】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、主たる産生細胞を上皮細胞とし、自然免疫や感染防御への関与が近年注目されている新たな IL-17 サイトカインファミリーであるが、その機能は未だ十分に解明されていない。我々は、気道上皮細胞における Toll-like receptor (TLR) 刺激による IL-17C の発現とその機能を解析し、TLR3 リガンドで合成 2 本鎖 RNA アナログである polyI:C は、NF- $\kappa$ 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 G-CSF, hBD2, 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することを報告した (*Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014)。これは、ウイルス感染時において、気道上皮で産生された IL-17C は抗菌ペプチドやサイトカイン発現を促進して気道感染防御に寄与することを示した意義深い知見であると考えられる。

一方、気管支喘息患者は臨床的に気道感染に罹患しやすいことが報告される。気管支喘息の病態形成には種々の獲得免疫応答が関与するが、Th2 型免疫応答はその主役で、Th2 サイトカイン (IL-4, 5, 13) は好酸球性気道炎症や気道上皮の粘液細胞過形成を惹起する。我々は Th2 サイトカインによる IL-17C 発現に対する作用を検討し、IL-4, 13 は気道上皮における IL-17C 発現を抑制することを見出した。これは喘息患者において、Th2 サイトカインは IL-17C 発現を抑制し、気道生体防御能の低下に関連することを示したものと考えられるが、その詳細な細胞内機序は明らかとなっていない。

そこで我々は、気道における IL-17C の低下が易感染性ならびに急性増悪の予後因子となる可能性があると考えた。すなわち、IL-17C の発現機序を調べ、その上流を制御することによって気管支喘息の急性増悪の予知・予防に繋げるべく、本研究を企画した。

【目的】気道上皮細胞における Th2 サイトカイン (IL-4, 13) による IL-17C 発現抑制作用の細胞内メカニズムを解析し、IL-17C 抑制に関わる因子を同定する。また、慢性気管支喘息患者における IL-17C 発現量を調べることにより、気道生体防御の低下を発見し、気道感染による喘息の急性増悪の予知・予防が可能か検証する。

【方法】正常ヒト気管支上皮細胞 (normal human bronchial epithelial cells; NHBE) の初代培養系および気管支上皮細胞 cell line (HBE1) を用いて、前炎症性サイトカイン

ンである IL-1 $\beta$ で刺激を行い、IL-17C の mRNA 及びタンパク発現誘導を real time PCR 法および ELISA 法にて検討した。また、IL-1 $\beta$ 誘導性 IL-17C 発現に対する IL-13 による抑制作用と、それに関わる細胞内機序をウエスタンブロット法およびクロマチン免疫沈降法にて解析を行った。

【結果】IL-1 $\beta$ は、NHBE における IL-17C 発現を mRNA 及びタンパクレベルで誘導した。また、IL-13 は、IL-1 $\beta$ による IL-17C 発現誘導を濃度依存的に抑制した。siRNA および特異的阻害剤を用いた NF- $\kappa$ B 経路阻害により、IL-1 $\beta$ による IL-17C 発現誘導は減弱し、NF- $\kappa$ B 経路が IL-1 $\beta$ による IL-17C 発現誘導に関わることが示唆された。一方、IL-13 による IL-17C 発現抑制効果は、STAT6 siRNA ならびに JAK 阻害剤により消失し、JAK-STAT6 経路が IL-17C 発現抑制に関わることが示された。

次に IL-17C 発現に関わる細胞内メカニズムについてウエスタンブロット法にて検討を行った。IL-1 $\beta$ の添加によって I $\kappa$ B $\alpha$ のリン酸化・分解および p65 の核内移行が認められたが、IL-13 の添加は IL-1 $\beta$ による I $\kappa$ B $\alpha$ のリン酸化・分解および p65 の核内移行に影響を与えなかった。

さらに、IL-17C 遺伝子の転写に関わるメカニズムについて、IL-17C プロモーター領域における NF- $\kappa$ B の結合強度をクロマチン免疫沈降法にて検討した。IL-17C 遺伝子の転写開始点から-3000 kbp までの領域に 3 つの NF- $\kappa$ B 結合領域を見出し、そのうちの 2 領域で、IL-1 $\beta$ の添加により NF- $\kappa$ B の結合が増強した。一方 IL-13 の添加は、IL-1 $\beta$ の作用を打ち消し、NF- $\kappa$ B の結合を減弱させた。

【考察】本研究により、気道上皮において Th2 サイトカインの存在が IL-17C 発現を低下させることが明らかとなった。また、JAK-STAT6 経路の活性化は IL-17C 発現抑制に関わる因子であることが示された。これらの結果から JAK-STAT6 経路の阻害は、気道における IL-17C 発現の低下を抑制し、易感染性ならびに急性増悪の予防法に繋がる可能性が示唆された。今後慢性気管支喘息の血清または BAL 中の IL-17C タンパク量を測定し、IL-17C 濃度と気道における易感染性との関連について調査することにより、IL-17C 値が感染ならびに気管支喘息の急性増悪の予測因子として使用できるかを検討していく予定である。

【結語】Th2 サイトカインは、JAK-STAT6 経路を介して気道上皮における IL-17C 発現誘導を抑制し、気道生体防御を低下させることが示唆された。Th2 優位の慢性気管支喘息患者では、IL-17C 濃度のモニタリングが気道感染または急性増悪の予知に繋がる可能性があると考えられた。

【感想】このたびは学術推進プロジェクトに御採用頂き、誠にありがとうございました。私が学術推進プロジェクトに応募した時期はまだ社会人大学院生であった時期であり、小さな研究費しか獲得できていなかったもので、学術推進プロジェクトの採択は大変喜ばしく、今でも心から感謝しています。採択当時はまだ研究結果もあまり出せていない状況であったため、頂いた研究費でいろいろな追加検討なども行うことができ、無事に論文発表（IL-13 regulates IL-17C expression by suppressing NF- $\kappa$ B-mediated transcriptional activation in airway epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 495: 1534-1540, 2018.）と医学博士の学位を取得することができました。また、このような研究費の採択に選択されたことも私にとっての自信に繋がりました。今後は支援してい

ただいた日本臨床検査医学会に少しでも還元できるよう努めたいと思います。当検査部では社会人大学院生として進学する後輩が増えてきております。後輩らにも学術推進プロジェクトに採択されるよう指導していきたいと思います。重ねてとなりますが、この度は本当にありがとうございました。