

嚢胞性線維症の気道上皮における感染誘導性 IL-8 産生制御機構の解明

分子機能薬学専攻 遺伝子機能応用学分野 水之江 翔太

嚢胞性線維症 (cystic fibrosis ; CF) は、クロライドチャネルである CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) の変異により生じる難治性の遺伝性疾患である。CF 患者は、CFTR を発現する多くの臓器 (肺、膵臓、腸、骨、皮膚など) において病態を呈するが、特に、気道における持続的な細菌感染 (緑膿菌、ブドウ球菌など) および粘液貯留や炎症に伴う気道壁の肥厚化は、呼吸不全を惹起し、患者は約 40 歳で死に至る。CF の気道病態の形成には、炎症性サイトカイン、プロテアーゼや活性酸素の産生を伴う好中球優位の炎症が重要である。また、好中球の動員や機能維持において中核をなすケモカイン IL-8 の発現が、CF 肺組織において高値を示し、このことが CF 病態形成に大きく寄与する。したがって、CF 肺組織における IL-8 産生制御機構を理解することは、CF 肺疾患治療薬または病態進行抑制薬開発の観点から極めて重要である。

IL-17 ファミリー分子の一つである IL-17A は、各種免疫反応において重要な役割を果たす比較的新しいサイトカインである。IL-17A は、主に Th17 細胞により産生され、ある種の細菌感染時の初期に誘導されてくる因子である。IL-17A は、各種細胞に作用し、直接的に、IL-6, IL-8, GM-CSF, CXCL1 などの顆粒球および好中球の遊走や形成に関わる因子を誘導し、また、相乗的に、他の炎症性因子や外界異物による刺激によって誘導される種々の因子の発現を誘導する。IL-17A は、このようにして、いわゆる”Th17 反応”とよばれる強力な免疫応答を惹起することで知られるが、一方、慢性関節リウマチや多発性硬化症などの自己免疫疾患においては増悪因子であるとの報告も多い。興味深いことに、近年、CF 患者の気管支肺胞洗浄液 (BALF) や喀痰中において、IL-17A の発現が増加しているとの報告もあり、CF 肺疾患においても、何らかの役割を担っている可能性が高い。

本研究では、これらの知見と CF 患者の気道において持続的な細菌感染症が惹起されていることに鑑み、細菌感染誘導性の IL-8 産生に関わる分子機序の解明を究極の目的とし、それぞれグラム陽性菌またはグラム陰性菌の主要膜構成成分である peptidoglycan (PGN) または lipopolysaccharide (LPS) による CF 気道刺激時の IL-8 発現誘導における IL-17A の役割について、種々の検討を実施した。

第 1 に、CF 患者で最も多く認められている変異である $\Delta F508$ -CFTR (508 番目のフェニルアラニンが欠損) をノックインした CF マウス ($Cftr^{\Delta F508/\Delta F508}$ マウス) およびその同腹子正常マウス ($Cftr^{+/+}$ マウス) を用いて、CF 肺組織における細菌感染誘導性の IL-8 産生に関わる IL-17A の関与についての検討を実施した。まず、PGN (*Staphylococcus aureus* 由来) または LPS (*Escherichia coli* 由来) の $Cftr^{+/+}$ および $Cftr^{\Delta F508/\Delta F508}$ マウスへの

経気管投与は、両マウスにおける肺組織中 IL-17A 遺伝子の発現を投与後 4 時間および 24 時間において安定的に誘導した。また、肺組織中 Th17 細胞分化関連遺伝子 (IL-6, TGF- β , IL-23, IL-23R) の発現も、投与後 24 時間において強く誘導された。一方、両マウスにおける KC (IL-8 のマウスホモログ) の発現は、PGN または LPS 投与後 4 時間から 24 時間にかけて経時的に強く誘導され、投与後 24 時間においては、好中球の肺組織への浸潤も観察された。この時、Cftr^{ΔF508/ΔF508} マウスにおける肺組織中 IL-17A, IL-23, IL-23R および KC の発現誘導は、Cftr^{+/+} マウスに比し、顕著であった。なお、本検討で用いたマウス個体内における IL-17A の発現量と KC の発現量の間には、有意な正の相関関係 ($p < 0.001$, $R = 0.8047$, $N = 88$) が認められた。以上の結果より、*in vivo* マウスモデルを用いた検討により、特に CF 肺組織における細菌感染刺激は、KC の発現を顕著に誘導し、好中球の気道への浸潤を促進するが、その際、IL-17A や Th17 関連因子が何らかの役割を担うことが想定された。

第 2 に、CF 患者の気道における細菌感染誘導性の IL-8 産生における IL-17A の役割について詳細な解析を実施した。まず、CF 患者由来の気道上皮細胞株 (CFBE41o-) およびヒト初代気管支上皮細胞 (DHBE-CF) 細胞に IL-17A 単独刺激を行ったところ、両細胞において IL-8 の産生が誘導された。この時、IL-17A により活性化される p38 MAPK および ERK MAPK シグナルが重要であった。次に、細菌感染による IL-8 発現誘導に対する IL-17A の影響を検討したところ、IL-17A は、CFBE41o- および DHBE-CF において、PGN または LPS による IL-8 の産生誘導を相乗的に増強することが明らかになった。一方、CFTR に変異のない正常気道上皮細胞株 (16HBE14o-, Calu-3) および健康人由来のヒト初代気管支上皮細胞 (NHBE) においては、IL-17A による IL-8 産生増強作用は認められなかった。最後に、CF 気道上皮細胞における IL-17A 依存性 IL-8 産生増強作用のメカニズム解明を試みた。その結果、CF 気道上皮細胞においては、PGN/LPS および IL-17A シグナルの下流共通分子である p38 MAPK の活性化が、IL-17A の共存により顕著に増強されることが示された。以上の結果より、*in vitro* 気道上皮細胞モデルを用いた検討により、IL-17A は、おそらく p38 MAPK 活性化を増強することで、CF 患者の気道における細菌感染誘導性の IL-8 産生を増大させることが明らかになった。

以上、本研究は、IL-17A が CF 気道上皮細胞において、細菌感染刺激を増強し顕著に IL-8 産生誘導を促進することをはじめて明らかにした。さらなる *in vivo* における検討が必要ではあるが、PGN または LPS 刺激後の Cftr^{ΔF508/ΔF508} マウス肺組織において IL-17A の発現が誘導されてくる点に鑑みると、本研究の知見は、CF 肺病態の形成において IL-17A が重要な役割を担うことを強く示唆するものである。