

氏 名 藤 井 誠

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲第801号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項

学 位 授 与 年 月 日 平成30年 3月 9日

学 位 論 文 題 目 Expression of Interleukin-26 is upregulated in  
inflammatory bowel  
disease.

(炎症性腸疾患におけるインターロイキン-26の発現増加)

審 査 委 員 主査 教授 縣 保年

副査 教授 漆谷 真

副査 教授 依馬 正次

## 論文内容要旨

|  |   |              |                 |
|--|---|--------------|-----------------|
| *整理番号  | 808   | (ふりがな)<br>氏名 | ふじい まこと<br>藤井 誠 |
| 学位論文題目   | Expression of Interleukin-26 is upregulated in inflammatory bowel disease.<br>(炎症性腸疾患におけるインターロイキン-26 の発現増加) |              |                 |
| <p>【目的】</p> <p>近年、潰瘍性大腸炎 (UC) やクローン病 (CD) に代表される炎症性腸疾患 (IBD) の発症原因として遺伝的素因を背景とした腸内細菌叢や食餌抗原に対する過剰な免疫反応が関与すると考えられている。Interleukin (IL)-26 は IL-10 サイトカインファミリーの 1 つであり、IL-10R2/IL-20R1 受容体複合体を介して作用することが報告されているが、マウスのホモログが同定されておらず、不明な点が多い。ヒトにおいては乾癬、関節リウマチ、喘息などとの関連が報告されているが、IBD での報告はまだ少ないのが現状である。今回、我々は大腸粘膜における IL-26 の発現や、大腸組織の免疫応答に関わる筋線維芽細胞における IL-26 の機能および作用機序について検討を行った。</p> <p>【方法】</p> <p>Real time PCR 法や免疫染色法を用いて、健常人と IBD 患者の大腸粘膜生検検体における IL-26 の発現を比較検討した。さらに蛍光免疫染色法を用いて IL-26 の発現細胞およびヒト大腸検体での IL-10R2・IL-20R1 の発現を検討した。機能解析のためヒト正常大腸粘膜から単離した大腸筋線維芽細胞を IL-26 で刺激し、炎症性サイトカインおよびケモカインの発現を real-time PCR 法や ELISA 法で検討した。また Western blot や small interfering RNA (siRNA) を用いて発現に関与するシグナル伝達経路を検討した。</p> <p>【結果】</p> <p>健常人と比較して IBD 粘膜検体において IL-26 発現が有意に亢進していた。UC, CD ともに活動期では寛解期と比較して有意な発現亢進が認められた。免疫染色法では健常人と比較して IBD 大腸検体において IL-26 発現細胞が多数認められた。蛍光免疫二重染色法では CD4 陽性 T 細胞・NK 細胞・マクロファージが IL-26 の産生細胞であることを示した。続いて、IBD 患者の腸管粘膜における IL-20R1 および IL-10R2 受容体の発現について蛍光免疫二重染色法を用いて検討を行ったところ、<math>\alpha</math>-SMA 陽性細胞において IL-20R1、IL-10R2 の発現が認められ、ヒト大腸筋線維芽細胞が IL-26 受容体を発現することが明らかとなった。生体における IL-26 の機能解析のためにヒト正常大腸粘膜から単離した大腸筋線維芽細胞を IL-26 で刺激したところ、IL-6、IL-8 の発現誘導が認められた。</p> |   |              |                 |

(続紙)

さらに IL-26 の大腸筋繊維芽細胞におけるシグナル伝達について検討を行った。IL-26 の刺激により STAT1, STAT3 のリン酸化が認められ、STAT1, STAT3 の siRNA の導入群において IL-26 による IL-6, IL-8 の発現誘導は著明に抑制された。また IL-26 の刺激により MAPK (p42/44 (ERK1/2), p38, JNK) および Akt のリン酸化が誘導され、MAPK 阻害剤、PI3K 阻害剤により IL-6・IL-8 の発現誘導が抑制されるのを確認した。さらに IL-26 刺激により NF $\kappa$ B-65, c-jun の発現が増強され、それぞれの siRNA 導入群でその阻害効果を観察した。以上の結果より、ヒト大腸筋繊維芽細胞において IL-26 は STAT1/3, MAPKs/PI3K, および NF $\kappa$ B/AP-1 を介して炎症性メディエーターを誘導することが示された。

**【考察】**

今回の研究で我々は、炎症性疾患患者の大腸粘膜における IL-26 の発現や、ヒト大腸筋線維芽細胞における IL-26 の機能およびシグナル伝達経路について明らかとした。IL-26 は IBD 患者の大腸粘膜中に IL-26 がより多く発現していた。IL-26 は UC の疾患感受性遺伝子として報告されており UC の病態形成に関与していると考えられているが、これまで UC 患者における報告はなかった。我々は CD と同様に UC 患者の炎症大腸粘膜においても IL-26 の発現が亢進していることを初めて示した。この結果から IL-26 は IBD の病態形成に関与していることが示唆された。

IL-26 はヒト大腸組織において CD4 陽性 T 細胞・NK 細胞・マクロファージより産生されることが示された。またヒト大腸筋線維芽細胞は IL-26 の受容体である IL-20R1・IL-10R2 を発現し、IL-26 の刺激により IL-6 や IL-8 などの炎症性メディエーターの誘導に関わることを今回初めて示した。これらのサイトカインは腸管炎症促進に関わる重要な因子であり、IL-26 が IBD を発症・増悪させる因子の 1 つである可能性が考えられる。

**【結論】**

IL-26 は IBD 患者の炎症性粘膜において発現が亢進していた。また IL-26 はヒト大腸筋線維芽細胞において STAT1/3, MAPKs/PI3K および NF $\kappa$ B/AP-1 を介して炎症性メディエーターを誘導し、腸管の炎症に関与していると考えられる。IL-26 は IBD の病態形成に関与していることが示唆される。

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。  
2. ※印の欄には記入しないこと。

## 学位論文審査の結果の要旨

|  |     |    |      |
|--|-----|----|------|
| 整理番号   | 808 | 氏名 | 藤井 誠 |
| 論文審査委員   |     |    |      |
| <p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>炎症性腸疾患の病態はまだ解明されていないが、遺伝的素因を背景として腸内細菌叢や食餌抗原に対する過剰な免疫反応が関与すると考えられている。炎症性腸疾患では、免疫担当細胞から分泌されるサイトカインを同定し、治療標的とすることが効果的であると考えられている。</p> <p>Interleukin-26 は IL-10 サイトカインファミリーに属し、IL-10R2/IL-20R1 受容体複合体を介して作用することが報告されている。IL-26 はクローン病や関節リウマチなど Th17 細胞関連疾患との関与が報告されているが、げっ歯類におけるホモログが同定されておらず、十分な解析がなされていない。</p> <p>本研究では、炎症性腸疾患の腸粘膜における IL-26 の発現や、大腸組織の免疫応答に関わる筋線維芽細胞に対する IL-26 の機能および細胞内シグナルについて検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 炎症性腸疾患活動粘膜では IL-26 の発現上昇が認められた。</li> <li>2) 腸管粘膜での IL-26 の産生細胞として CD4<sup>+</sup>T 細胞、NK 細胞およびマクロファージが考えられた。</li> <li>3) ヒト大腸筋線維芽細胞は IL-10R2, IL-20R1 受容体複合体を発現しており、IL-26 の大腸での標的細胞の一つとして考えられた。</li> <li>4) IL-26 はヒト大腸筋線維芽細胞において STAT1/3, MAPK, PI3K, NF-<math>\kappa</math>B, AP-1 を介して IL-6 や IL-8 を誘導した。</li> </ol> <p>本論文は、炎症性腸疾患における IL-26 の発現やヒト大腸筋線維芽細胞に対する IL-26 の機能について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 593 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 30 年 1 月 30 日 )</p> |     |    |      |