

氏 名	あわ ね まさ あき 栗 根 雅 章
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1733 号
学位授与の日付	平 成 13 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	NF-kappa B-inducing kinase is a common mediator of IL-17-, TNF-alpha-, and IL-1 beta-induced chemokine promoter activation in intestinal epithelial cells. (NF-kappa B-inducing kinase は、腸上皮細胞における IL-17, TNF-alpha, IL-1 beta によるキモカインプロモーター活性化の共通の伝達物質である。)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 本 庶 佑 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

IL-17はリンパ球活性化特異的遺伝子として発見された新しいサイトカインであり、活性化Tリンパ球のみに発現する。一方、IL-17受容体の発現は腸上皮細胞株 IEC-6 を含むほぼすべての臓器や細胞株に認められる。IL-17は線維芽細胞で NF- κ B の活性化と、その下流で IL-8, IL-6, GSCF などの発現を誘導する。しかし、腸粘膜固有層でリンパ球によって分泌された IL-17刺激に腸上皮細胞がどのように反応するのか、また腸上皮細胞における IL-17受容体からのシグナル伝達系についてはいまだ明かではない。本研究では腸上皮細胞における、IL-17刺激に対する反応とそのシグナル伝達経路について、同様に NF- κ B の活性化をきたす IL-1 β , TNF- α のシグナル伝達経路との関連を明らかにするために以下の研究を行った。

ラットの腸上皮細胞株 IEC-6 は、IL-17の刺激によってケモカインを発現する。腸上皮細胞においても IL-17が NF- κ B を活性化するかを検討するために NF- κ B コンセンサスシーケンスによる EMSA を行ったところ、IL-17は NF- κ B サブユニット p65 / p50を活性化していることが示された。NF- κ B の誘導がケモカインの mRNA 発現を伴うかを見るためにノザンプロットを行ったところ、IL-17はラットの CXC ケモカインである CINC, CC ケモカインである MCP-1 の mRNA を用量依存性に誘導した。IL-17が IL-1 β によるケモカイン発現誘導を増強するかを見るために CINC プロモーターを luciferase reporter に挿入しプロモーターアッセイを行った。この結果、IL-17は IL-1 β と相乗的に働き CINC プロモーターを活性化した。IL-17による CINC プロモーターの活性化が IL-1 β あるいは TNF- α のシグナル伝達経路を必要としているかを検討するため、TNF- α の伝達分子である Traf-6 と、IL-1 β シグナルを伝達する Traf-2 のそれぞれのドミナントネガティブを IEC-6 cell に発現させ、CINC プロモーターの活性化が阻害されるかを調べた。すると、IL-17による CINC プロモーターの活性化は TRAF 6 を介していたが、TRAF 2 は関与していなかった。さらに IL-1 β と TNF- α シグナルが合流する NIK (NF- κ B inducing kinase) とその下流の IKK- α (I κ B kinase- α) について、NIK および IKK- α のキナーゼ欠損 mutant が IL-17による CINC プロモーターの活性化および NF- κ B の活性化を阻害した。

また IL-17は extracellular regulated kinase (ERK), c-Jun N-terminal kinase (JNK), p38の MAP kinase の活性化を誘導した。ERK の活性化は ras 依存性であり、下流の ELK-1 の活性化を伴っていた。一方、JNK 活性化は TRAF 6 に依存性であったが、NIK あるいは IKK- α は必要ではなかった。IL-17は ERK の活性化を誘導したに関わらず、血清非存在下では IEC-6 cell の増殖を抑制した。

これらのデータから、腸上皮細胞において NIK は IL-17, TNF- α , IL-1 β によって引き起こされる NF- κ B 活性化シグナル伝達系の共通の伝達物質であり、IL-17は IL-1 β と共通のシグナル伝達経路を用いていることが示唆された。また、同時に IL-17は増殖抑制や ERK, JNK, p38の活性化などの反応を腸上皮細胞に引き起こすことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

IL-17は活性化Tリンパ球のみに発現し、ほぼすべての臓器に広く発現しているIL-17受容体を介してNF- κ Bの活性化と proinflammatory genes の発現を誘導する。腸管粘膜免疫機構におけるIL-17の役割を明らかにするため、腸上皮細胞のIL-17刺激のシグナル伝達経路について、IL-1 β , TNF- α のシグナル伝達経路との関連に注目して本研究が実施された。ラットの腸上皮細胞株IEC-6は、IL-17の刺激によってケモカインを発現する。IL-17はIEC-6においてNF- κ Bを活性化し、ついでラットのケモカインであるCINC, MCP-6のmRNAの発現を誘導した。Dominant negativeを用いたプロモーターアッセイの結果、CINCプロモーターの活性化はTNF- α の伝達分子であるTRAF6を介していたが、IL-1 β の伝達分子TRAF2は関与していなかった。さらにIRAF2/6の下流のNIKとIKK- α がIL-17によるCINCプロモーターの活性化およびNF- κ Bの活性化に必要であった。またIL-17はERK, JNK, p38のMAP kinaseの活性化を誘導した。JNK活性化はTRAF6に依存性であったが、NIK, IKK- α は必要ではなかった。以上より腸上皮細胞においてNIK, IKK- α はIL-17, TNF- α , IL-1 β によって引き起こされるNF- κ B活性化シグナル伝達系の共通の伝達物質であり、IL-17はIL-1 β と共通のシグナル伝達経路を用いていると考えられた。

以上の研究は消化管免疫に於けるIL-17の役割の解明に貢献し、消化器病学、消化器外科学に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年11月30日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。