

工藤 英郎 氏の学位論文審査の要旨

論文題目：培養皮膚繊維芽細胞における IL-20 の I 型コラーゲン発現に与える影響とその機序についての研究

(The study of the affect and mechanisms of interleukin-20 on type I collagen expression in cultured dermal fibroblasts)

インターロイキン (IL) -20 は IL-10 ファミリーに属するサイトカインであり、主に単球やケラチノサイトなどに発現し、様々な自己免疫性疾患の病態形成に関与している。しかし、全身性強皮症 (systemic sclerosis : SSc) の病態や細胞外マトリックス制御における役割については未だ解明されていない。本研究では、培養皮膚線維芽細胞において IL-20 が I 型コラーゲン発現に与える作用について検討し、SSc における細胞外マトリックス調節異常を主病態とする線維化と IL-20 シグナルとの連関について考察した。

I 型コラーゲン、Fli1、IL-20、IL-20 受容体のタンパク質の発現レベルを、免疫ブロット法、免疫組織染色法および酵素免疫測定法を用いて、mRNA の発現レベルは、PCR アレイおよびリアルタイム PCR 法を用いて解析した。IL-20 刺激を行った健常人由来皮膚線維芽細胞培養では、 $\alpha 2(I)$ コラーゲン、Smad3、endoglin の mRNA の発現低下、および Fli1 タンパク質の発現上昇が認められた。SSc 患者由来皮膚線維芽細胞や TGF- β 存在下健常人由来皮膚線維芽細胞培養では、無刺激の健常人由来皮膚線維芽細胞培養と比べ、I 型コラーゲンの mRNA およびタンパク質の発現上昇が認められた。SSc 患者由来皮膚線維芽細胞や TGF- β 存在下健常人由来皮膚線維芽細胞培養に IL-20 を添加すると Fli1 発現上昇に加え、Smad3 および endoglin 発現低下をもたらし、I 型コラーゲンの発現は無刺激の健常人由来皮膚線維芽細胞培養で見られた発現レベルまで減少した。SSc 患者皮膚組織における IL-20 mRNA およびタンパク質の発現レベルは、健常人に比べ有意に低下していた。一方、IL-20 受容体の発現レベルは、2 群間で差を認めなかった。SSc 患者の血清 IL-20 濃度は、健常人に比べ低下傾向を示した。SSc マウスモデルであるブレオマイシン誘発性皮膚線維化マウスを作成し、IL-20 の皮下投与を行った。皮膚コラーゲン含有量を指標とした線維化の評価および皮膚組織切片での真皮厚を計測した結果、IL-20 投与による線維化および皮膚肥厚への治療効果が認められた。

審査の過程において、皮膚以外での IL-20 の生体内における作用、SSc の食道病変と IL-20 との関連、IL-20 の発現制御機構、SSc の病態における IL-20 低下の分子機構、 $\alpha 2(I)$ コラーゲン転写調節における Fli1 と Ets1 の関連、Smad3 や endoglin がコラーゲン発現に作用する機序等について多くの質問がなされたが、申請者からは適切な解答と考察がなされた。

本研究成果は、IL-20 が Fli1 発現上昇を介してコラーゲン遺伝子の転写を抑制させること、SSc の病態において過剰発現している TGF- β の作用を Smad3 や endoglin の発現低下を介して減弱することを明らかにした。さらに、SSc マウスモデルにおいて、IL-20 皮下投与がブレオマイシンによって誘発される線維化や皮膚肥厚を改善させることを示し、IL-20 発現および作用の増強が SSc の新規治療法開発につながることを示したものであり、学位の授与に値するものと評価した。

審査委員長

分子遺伝学担当教授

後藤 正一