

炎症性皮膚疾患の病態調節因子が発現する機構を解明

～乾癬をはじめとする難治性皮膚炎の治療法開発に期待～

ポイント

- ・乾癬^{かんせん}の病態形成を司るタンパク質 I κ B- ζ の発現にリン酸化酵素 TYK2 が役割を持つことを発見。
- ・TYK2 の役割はインターロイキン 17 の作用を受けた細胞ではっきりと現れることを解明。
- ・乾癬をはじめとするインターロイキン 17 が関連する難治性皮膚炎の治療法開発の進展に期待。

概要

北海道大学大学院薬学研究院の室本竜太講師，松田 正教授らの研究グループは，炎症性皮膚疾患の病態形成に関わるタンパク質である I κ B- ζ *¹（アイカッパビーゼータ）が，表皮角化細胞*²内で発現誘導される分子機構にリン酸化酵素である TYK2*³ が役割をもつこと，また，TYK2 は炎症性サイトカイン*⁴ のインターロイキン 17*⁵ が細胞に及ぼす効果（mRNA*⁶ 安定化効果）と協調することで I κ B- ζ 発現誘導を担うことを発見しました。

炎症性皮膚疾患である乾癬では，病変部で高産生されているインターロイキン 17 が皮膚の角化細胞に作用することで，炎症物質の継続的産生や角化細胞の増殖促進をもたらし，病変が形成されると考えられています。また，このようなインターロイキン 17 の作用の一部は，I κ B- ζ （インターロイキン 17 の作用を受けた細胞内で増加するタンパク質）のはたらきを介して起こることがこれまでに報告されていました。しかし，角化細胞内で I κ B- ζ の発現が誘導される分子機構は明らかになっていませんでした。

研究グループは，角化細胞における I κ B- ζ 発現誘導には，細胞内で独立に起こる二つの事象の協調が重要であることを発見しました。一つ目は，リン酸化酵素である TYK2 と，TYK2 により活性化反応を受ける転写因子*⁷STAT3 からなるシグナル伝達経路が，I κ B- ζ 遺伝子の転写（mRNA の合成）を起こすためのシグナルを伝えていることです。二つ目は，合成される I κ B- ζ mRNA はもともと非常に分解されやすい性質（不安定性）を持っていますがインターロイキン 17 の作用がその不安定性の解除（mRNA の安定化）を引き起こすことです。

本研究により，これら二つの事象のどちらか一方のみを抑制するだけで，インターロイキン 17 による I κ B- ζ 発現誘導が低下することと，効率的な I κ B- ζ 発現誘導には，両者の協調が必要であることが明らかになりました。これらの知見から，TYK2 の機能を抑制することやインターロイキン 17 の持つ mRNA 安定化作用を抑制することによって，インターロイキン 17 が引き起こす炎症反応を抑制できる可能性が示唆され，乾癬の新たな治療薬開発の手掛かりとして期待されます。

なお，本研究成果は，2019 年 5 月 16 日（木）公開の ImmunoHorizons 誌に掲載されました。

【背景】

乾癬は、皮膚が赤く腫れ、その表面から白い皮がフケのように剥がれ落ちる慢性の炎症性皮膚疾患です。日本では、人口の約 0.3% (約 43 万人) が罹患していると報告され、世界では人口の約 3% (約 1 億 2500 万人) が罹患しているともいわれる患者数の多い難治性皮膚疾患です。近年、T リンパ球等の免疫細胞が産生する炎症性サイトカインであるインターロイキン 17 が、乾癬の皮膚炎症反応において重要な役割を果たしていることが報告され、実際、インターロイキン 17 の機能を阻害する抗体は臨床現場で有効な治療薬として使用されています。

インターロイキン 17 は、皮膚の角化細胞などに作用し、増殖因子や抗菌ペプチド類を産生させることで、好中球や樹状細胞などの免疫細胞をさらに動員・活性化させます (図 1)。この免疫細胞-非免疫細胞間でのインターロイキン 17 を介した相互活性化を含む一連の過程は、炎症反応を誘発しますが、この炎症反応の持つ良い側面の一つは、真菌・細菌感染に対抗するための生体防御機構を局所で増幅させることです。一方で、インターロイキン 17 の過剰な産生や応答による悪い側面としては、炎症反応の不必要な持続化を招き組織の破壊や自己免疫反応につながることで、乾癬、関節リウマチ患者やこれらの疾患マウスモデルにおいて示されています。そこで、インターロイキン 17 応答やその制御機構の理解は、新しい機序のインターロイキン 17 阻害薬の開発を可能とし、インターロイキン 17 が関わる炎症疾患に対する治療選択肢の拡充に繋がると期待されます。

インターロイキン 17 の作用を受けた角化細胞や乾癬患者の病変部皮膚では、 $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ と呼ばれるタンパク質の高発現が見られることが報告されています。松田教授らの研究グループは、これまでに $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ が乾癬病変部で発現が増加する遺伝子群の発現に役割を持つことを見出していました。しかし、 $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ そのものの発現制御機構は明らかとなっておらず、その解明は、インターロイキン 17 が作用する際の分子機構の理解に役立つと考えられていました。また、研究グループは、これまでの研究で JAK ファミリーのリン酸化酵素である TYK2 が、乾癬のマウスモデル病態に役割を持つことを見出していました。インターロイキン 17 による角化細胞の活性化における TYK2 の役割は不明でした。

そこで、本研究では $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ 発現誘導における TYK2 の寄与を明らかにすることにも着目し、検証を行いました。

【研究手法と研究成果】

研究グループは、乾癬のマウスモデルであるイミキモド誘発皮膚炎の実験を行い、正常マウスと TYK2 遺伝子欠損マウスの差異を検討しました。その結果、TYK2 が $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ の発現増加に役割を持つことが明らかになりました。

イミキモド塗布によって起こる皮膚炎は、正常マウスに比べて TYK2 欠損マウスでは抑制されました。また、正常マウスの炎症組織では、 $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ を含むインターロイキン 17 標的遺伝子の発現量の増加が観察されましたが、TYK2 欠損マウスでは増加が抑制されていました。さらに、ヒト由来の角化細胞をインターロイキン 17 によって刺激した際に増加する $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ の量についても、遺伝子ノックダウン*⁸ の手法を用いて TYK2 の関与を検討したところ、TYK2 の発現量を抑制させた角化細胞では、インターロイキン 17 により誘導される $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ 発現量が減少していました。したがって、TYK2 が $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ 発現増加に役割をもつことが示唆されました。

続いて、細胞内で遺伝子 (DNA) から mRNA が合成される過程である転写反応を促進するシグナルとして TYK2 が役割を持つかどうかを調べるため、 $\text{I}\kappa\text{B}-\zeta$ 遺伝子の発現制御領域の DNA 配列に発光タンパク質であるルシフェラーゼ遺伝子を結合させたレポーター遺伝子を用いて、発光の強度によって

mRNA 合成量を測定する実験を実施しました。その結果、このレポーターの発光は、遺伝子導入によって TYK2 の発現量を増加させた場合に増強されましたが、インターロイキン 17 で細胞を処理しても増強は観察されませんでした。このことから、TYK2 は I κ B- ζ 遺伝子の転写活性化を起こすシグナル伝達に寄与するものの、インターロイキン 17 はそれに寄与しないことがわかりました。また、詳細な解析により、TYK2 によってリン酸化を受けることで活性化される転写因子の STAT3 がこの過程で役割を持つことと、TYK2 による STAT3 リン酸化を阻害できる低分子化合物 (Cerdulatinib, Pyridone-6, Tofacitinib) がインターロイキン 17 刺激時の I κ B- ζ 増加を阻害できることも見出しました。

インターロイキン 17 はそのユニークな性質として、炎症関連遺伝子の mRNA の安定化を促すことが近年明らかになってきており、これが炎症反応の持続的かつ強い増幅効果をもたらす、炎症性疾患の増悪の原因となることが知られています。そこで、転写反応で合成された I κ B- ζ mRNA がインターロイキン 17 の作用や TYK2 の機能によって安定化されるかを解析しました。解析にあたっては、RNA 安定化と転写 (mRNA 合成) を異なる段階として区別するため、I κ B- ζ mRNA 中に存在する安定性調節配列を利用した発光レポーター遺伝子を用いた解析を行い mRNA 安定化反応を発光強度として測定しました。その結果、遺伝子導入によって TYK2 発現量を増加させても mRNA の安定化反応は検出されませんでした。一方、インターロイキン 17 で処理した細胞では mRNA 安定化反応が強く誘導されました。これらの結果から、I κ B- ζ の発現誘導が起こる過程において、TYK2 は転写活性化 (mRNA 合成) に寄与し、インターロイキン 17 は転写後の mRNA 安定化にそれぞれ寄与することがわかりました (図 2)。

また、インターロイキン 17 シグナルが I κ B- ζ mRNA を安定化させる分子機構の解析を進めました。RNA 分解酵素である Regnase-1^{*9} (レグネース-1) を遺伝子ノックダウンの手法を用いて発現抑制し、I κ B- ζ mRNA 発現量を測定した結果、Regnase-1 のノックダウンを行うと、特に平常時の (インターロイキン 17 の作用を受けていない) 細胞内において、I κ B- ζ mRNA 量が増加することが観察されました。一方、インターロイキン 17 処理下では、コントロールと Regnase-1 低下群との間で I κ B- ζ mRNA 発現量に差はみられませんでした。この結果は、Regnase-1 による I κ B- ζ mRNA 分解は、特に平常時の細胞内で起こっていること、また、インターロイキン 17 にはそれを解除する作用があることを示唆しています。さらに、インターロイキン 17 の作用発揮に必須の役割を持つことが知られているタンパク質である ACT1 を遺伝子ノックダウンにより抑制すると、インターロイキン 17 による mRNA 安定化反応は観察されなくなりました。これらの結果から、インターロイキン 17 によるシグナル伝達は、mRNA 分解機構に拮抗して mRNA 安定化を引き起こし、インターロイキン 17 には ACT1 を介して Regnase-1 の機能を抑制する作用があることが示唆されました。

インターロイキン 17 の作用を受けた細胞内では、RNA 分解酵素の活性が阻害され、I κ B- ζ mRNA が分解されずに蓄積できる状況が作り出されると考えられます。この時、TYK2 と転写因子 STAT3 が担う転写活性化経路の役割が、I κ B- ζ mRNA の蓄積速度として顕在化してくることが示唆されました。

【今後への期待】

I κ B- ζ 発現が効率的に達成される過程には、転写誘導と転写後制御のいずれもが寄与しており、これらが両輪として協調することが重要と考えられます。本研究から、リン酸化酵素である TYK2 を阻害する化合物や、インターロイキン 17-ACT1 経路が担う mRNA 安定化反応を阻害する化合物は、いずれも皮膚の角化細胞を標的としてインターロイキン 17 誘導性炎症を抑制する手段になり得ることが示されました。将来的に、乾癬治療における新たな選択肢の開発に役立つことが期待されます。

論文情報

論文名 I κ B- ζ Expression Requires Both TYK2/STAT3 Activity and IL-17-Regulated mRNA Stabilization (TYK2/STAT3 シグナルと IL-17 依存性の mRNA 安定化が I κ B- ζ 発現調節を担う)

著者名 室本竜太¹, 多和佳佑², 大垣内優依², 佐藤亜美², 斎野由佳³, 平島洸基², 美濃口広弥², 鍛代悠一¹, 柏倉淳一¹, 下田和哉⁴, 織谷健司⁵, 松田 正¹ (¹北海道大学大学院薬学研究院, ²北海道大学大学院生命科学院, ³北海道大学薬学部, ⁴宮崎大学医学部, ⁵国際医療福祉大学大学院医学研究科)

雑誌名 ImmunoHorizons (免疫学の専門誌)

DOI 10.4049/immunohorizons.1900023

公表日 2019年5月16日(木)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 講師 室本竜太 (むろもとりゅうた)

T E L 011-706-3245 F A X 011-706-4990 メール muro@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正 (まつだ ただし)

T E L 011-706-3243 F A X 011-706-4990 メール tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimuhokudai.ac.jp

【用語解説】

- *1 I κ B- ζ … 乾癬患者の病変部皮膚において高発現しているタンパク質の一つ。遺伝子発現を調節する機能を持ち、病変部での特徴的な遺伝子発現をもたらす原因となっていることが示唆されている。
- *2 角化細胞 … 表皮を構成する細胞。ケラチノサイトとも呼ばれる。
- *3 TYK2 … 細胞がサイトカインの作用を受けた時に活性化されるリン酸化酵素。構造が類似する4種の酵素を含む JAK ファミリーの一つ。STAT というタンパク質をリン酸化することで情報を伝える。
- *4 サイトカイン … 免疫細胞同士、あるいは免疫細胞と非免疫細胞がお互いに交信するための可溶性のタンパク質。微量で強い生理活性を示し、さまざまな生理現象や病態形成に深く関与する。
- *5 インターロイキン 17 … ヘルパーT細胞などの免疫細胞が作り出し放出するサイトカインで、炎症を増幅する作用を通じて免疫反応や疾患形成に関わる。
- *6 メッセンジャーRNA (mRNA) … DNA に含まれる遺伝子の情報をタンパク質に変換する際に核内で合成される物質。これがタンパク質に変換されることによって、遺伝子の機能が発揮される。

*7 転写因子 … DNA の配列を基にして mRNA が合成される反応を転写といい、DNA に結合して転写を活性化させるタンパク質のことを転写因子という。転写因子の一つである STAT3 はリン酸化を受けることで活性化されることが知られている。

*8 遺伝子ノックダウン … ここでは siRNA (small interfering RNA) を用いた遺伝子ノックダウンを指す。siRNA は RNA 干渉と呼ばれる配列特異的に mRNA 量が抑制される現象に関与する。その原理を利用し、解析対象として興味のある特定の遺伝子の発現量を大きく減少させて機能を失わせた上で、細胞への影響を調べることができる。

*9 Regnase-1 … インターロイキン 6 や $I\kappa B-\zeta$ などの炎症反応を引き起こす遺伝子の mRNA を分解するタンパク質 (酵素)。

【参考図】

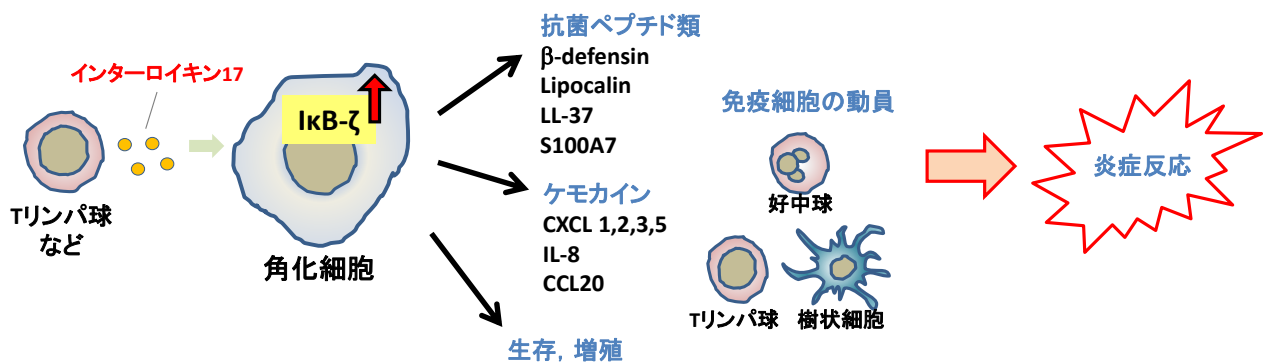


図 1. IL-17 による角化細胞活性化と $I\kappa B-\zeta$

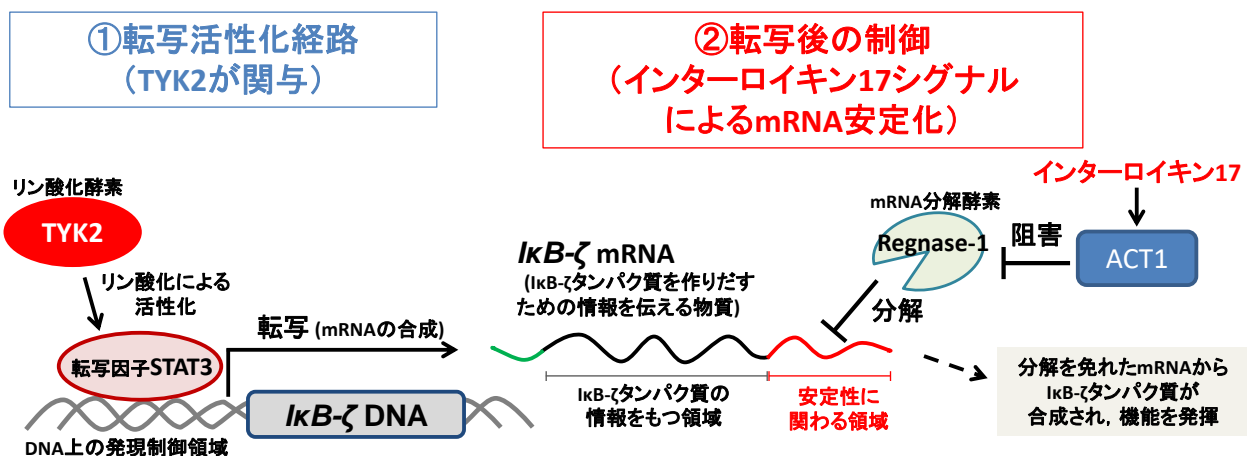


図 2. TYK2 とインターロイキン 17 は協調して $I\kappa B-\zeta$ 遺伝子発現を引き起こす。インターロイキン 17 の作用を受けた細胞内では mRNA 分解酵素の活性が阻害され、 $I\kappa B-\zeta$ mRNA が分解を免れる状況が作り出される。この時、TYK2 と転写因子 STAT3 が担う転写活性化経路の役割が、 $I\kappa B-\zeta$ mRNA の蓄積速度として現れる。