

Involvement in IL-31 and Oncostatin M on tissue remodeling and itch sensation of Vernal Keratoconjunctivitis

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 眞下, 圭太郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2001971

順天堂大学	博士 (医学)	氏名	眞下 圭太郎
論文題目	Involvement in IL-31 and Oncostatin M on tissue remodeling and itch sensation of Vernal Keratoconjunctivitis (春季カタルの組織修復と痒みにおける IL-31 および Oncostatin M の関与)		

(論文内容の要約) (1000字~1500字)

【目的】

春季カタルは慢性アレルギー性結膜炎であり重度の痒みを伴う。炎症の主座である巨大乳頭には様々な炎症性細胞が浸潤しており、種々のサイトカインおよびケモカインを産生している。しかし、春季カタルの巨大乳頭形成および痒みを引き起こすサイトカインは明言されていない。今回は、IL-6ファミリーである IL-31 と Oncostatin M (OSM) に焦点を当て検討した。IL-31 および OSM は OSM receptor (OSMR) を共有しており、そのシグナル伝達は主に JAK/STAT 経路を介して行われる。IL-31 はアトピー性皮膚炎の痒みや気管支喘息、炎症性腸疾患などのアレルギー性疾患の病態との関与が報告されている。しかしながら、眼科領域において現在までに IL-31 とアレルギー性結膜疾患との関連性の報告はない。一方、OSM は炎症・増殖・修復・繊維化・アポトーシスなど様々な機能を有している。この研究の目的はアレルギー性結膜疾患、特に春季カタルの病態への IL-31 および OSM の関連性を示すことである。

以上より、私たちはまず結膜上皮細胞における IL-31 および OSM 受容体の発現の有無を確認するため培養ヒト結膜上皮細胞 (HConEpiCs) 及び培養ヒト結膜線維芽細胞 (HConFs) を用いて IL-31・OSM 受容体の発現解析を行い、その下流シグナル伝達経路の活性を解析した。また、IL-31 および OSM シグナルの下流遺伝子の探索を Micro Array および real-time PCR にて行った。さらに、春季カタル患者の涙液中の IL-31・OSM 濃度および結膜組織中の IL-31・OSM 産生細胞を検討した。

【方法】

HConEpiCs および HConFs を培養して、ヘテロダイマーである IL-31RA と OSMR の発現を Flow cytometry および免疫染色にて検討した。培養した HConEpiCs に IL-31 及び OSM を付加し、シグナル伝達経路の下流である STAT1 及び STAT3 のリン酸化を Western blotting を用いて検討した。また、IL-31・OSM シグナルによる発現遺伝子を探索するため、IL-31 及び OSM で刺激した HConEpiCs および HConFs から RNA を抽出し Gene Micro Array にて遺伝子発現解析を行い、その結果発現が上昇していた幾つかのサイトカインに関してさらに PCR にて発現の有無を確認した。次に、春季カタル患者の涙液を採取し、涙液中の IL-31 及び OSM を ELISA にて測定した。また巨大乳頭結膜組織を採取し、IL-31 及び OSM の発現の有無を免疫染色及び PCR にて検討した。

【結果】

Flow cytometry 及び免疫染色にて HConEpiCs に IL-31RA と OSMR 両者を、HConFs に OSMR の発現を認めた。HConEpiCs に IL-31 及び OSM で刺激を行った際 Western blotting にてリン酸化 STAT1 及びリン酸化 STAT3 の増加を認めた。また IL-31 及び OSM にて刺激された HConEpiCs および HConFs の RNA を抽出し Micro array にて解析すると種々の遺伝子発現を認めた。IL-31 で HConEpiCs を刺激した結果の中で増加を認めた SOCS3 及び SERPIN β 3 をさらに PCR にて確認すると、SOCS3 のみが増加していた。また OSM で HConEpiCs を刺激した結果の中でも SOCS3, SERPIN β 3 は増加しており、その他にも MMP1, MMP3, IL-20, IL-24, TNC などが増加していた。OSM にて HConFs を刺激すると同様に SOCS3, SERPIN β 3 が増加しており、さらに IL-33, VEGFA, CCL8 等が増加していた。同様に PCR にても増加を確認した。

春季カタル患者の涙液中には OSM のみが存在した。また、巨大乳頭組織中には免疫染色および PCR にて IL-31 および OSM の発現を認めた。

【考察】

OSM は炎症・増殖・修復・繊維化に関わっており、OSM 刺激により結膜上皮細胞から産生された MMP-1, MMP-3, IL-20, IL-24, Tenascin C, IL-33, VEGFA は組織修復による巨大乳頭形成に関与しており、IL-31 は春季カタルの痒みに関連していると考えられた。