

氏名(本籍)：西岡貴志

学位の種類：博士(歯学) 学位記番号：歯博第421号

学位授与年月日：平成19年3月27日 学位授与の要件：学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻：東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目：IL-18 expressed in keratinocytes/epithelial cells contributes to serum IL-18 levels and causes deleterious alteration in murine organs

(ケラチノサイト/上皮細胞におけるIL-18の発現は血清IL-18レベルに寄与し、マウスの組織に有害な変化を引き起こす)

論文審査委員：(主査) 教授 笹野高嗣

教授 菅原俊二 教授 高田春比古

## 論文内容要旨

免疫反応の制御に重要なIL-18は、T細胞やNK細胞におけるIFN- $\gamma$ 産生誘導(IL-12と共同)、NK細胞の活性増強、リンパ球でのFasリガンド発現の増強、Th1/Th2のコントロールなど多彩な生物活性を示す。IL-18は細胞内で24kDaの前駆体として発現し、カスパーゼ-1(ICE)によってプロセッシングを受け、18kDaの成熟型IL-18となり細胞外に分泌されるという産生機構を持つ。これまでIL-18は、主としてクーパー細胞などの活性化マクロファージから産生されるとされてきたが、皮膚のケラチノサイト、種々の上皮細胞にも発現する。また、多岐の疾患において血清IL-18濃度が上昇することが報告されている。

このような背景から本研究では、血清中のIL-18は、本当にマクロファージのみに由来するのか、組織内のIL-18過剰発現はどのような影響を及ぼすのか、という点について検討した。

実験動物は、6~9週令の雌WTマウス(C57BL/6)とヒトケラチン5プロモーター遺伝子と成熟IL-18遺伝子を導入したKeratin 5/IL-18 transgenic(K5/IL-18TG)マウスを用いた。これらのマウスに*Propionibacterium acnes*加熱死菌をi.p.した7日後にLPSをi.v.(1 $\mu$ g/mouse)し、その2時間後に血清および各臓器・組織を採取し、IL-18 ELISA, Western Blotting, H-E染色などを用いて解析した。マクロファージを除去するために投与したclodronate-liposome(Clo-lip)(白濁した懸濁液の5倍希釈200 $\mu$ l/mouse i.v.)は、*P. acnes*投与1日前、3日後、LPS投与の24時間前の合計3回投与(i.v.)した。

その結果1) Clo-lipの前投与は、F4/80<sup>+</sup>マクロファージを著明に除去したが、*P. acnes*/LPS処理したWTマウスの血清IL-18濃度に有意な減少は見られなかった。2) 未処理のWTマウスのIL-18濃度は、肝臓・肺・脾臓ではわずかな発現であったが、腸、特に十二指腸では高値を示した。*P. acnes*単独投与ではIL-18濃度がさらに上昇した。*P. acnes*/LPS処理したWTマウスにおいては肝臓と脾臓で上昇したが腸では明らかに減少した。3) Clo-lip前投与によっても各臓器のIL-18濃度に影響はなかった。4) K5/IL-18TG

マウスでは、血清 IL-18 濃度が有意に高値を示していた。*P. acnes*/LPS 処理により血清、口腔組織（唾液腺・下顎骨・舌）、胸腺で IL-18 の著しい上昇を認めた。さらに、唾液腺と胸腺の障害を誘導した。

以上の結果より、*in vivo* において血中の IL-18 は、マクロファージに由来しないことが示唆された。おそらく、ケラチノサイト／上皮細胞に由来すると考えられる。また、口腔領域において、IL-18 の過剰発現が唾液腺等の障害に関与している可能性が示唆された。

## 審 査 結 果 要 旨

免疫反応の制御に重要な IL-18 は、T 細胞や NK 細胞における IFN- $\gamma$  産生誘導 (IL-12 と共同)、NK 細胞の活性増強、リンパ球での Fas リガンド発現の増強、Th1/Th2 のコントロールなど多彩な生物活性を示す。IL-18 は細胞内で 24kDa の前駆体として発現し、カスパーゼ-1 (ICE) によってプロセッシングを受け、18kDa の成熟型 IL-18 となり、細胞外に分泌されるという産生機構を持つ。これまで IL-18 は、主としてクッパー細胞などの活性化マクロファージから産生されるとされてきたが、皮膚のケラチノサイトや種々の上皮細胞にも発現する。また、多岐の疾患において血清 IL-18 濃度が上昇することが報告されている。このような背景から本研究では、血清中の IL-18 は、本当にマクロファージのみに由来するのか、組織内の IL-18 過剰発現はどのような影響を及ぼすのか、という点について検討したものである。実験動物として、6～9 週令の雌 WT マウス (C57BL/6)、及びヒトケラチン 5 プロモーター遺伝子と成熟 IL-18 遺伝子を導入した Keratin 5/IL-18 transgenic (K5/IL-18TG) マウスを用いている。これらのマウスに *Propionibacterium acnes* 加熱死菌を腹腔内投与した 7 日後に LPS を尾静脈内投与 (1 $\mu$ g/mouse i.v.) し、その 2 時間後に血清および各臓器・組織を採取し、IL-18 ELISA, Western Blotting, H-E 染色を用いて解析している。マクロファージを除去するために投与した clodronate-liposome (Clo-lip) (200 $\mu$ l/mouse i.v.) は、*P. acnes* 投与 1 日前、3 日後、LPS 投与の 24 時間前の合計 3 回投与 (i.v.) している。

その結果、以下の点を明らかにしている。① clo-lip の前投与は、F4/80<sup>+</sup> マクロファージを著明に除去するが、*P. acnes*/LPS 処理した WT マウスの血清 IL-18 濃度に有意な減少は見られない。② 未処理の WT マウスの IL-18 濃度は、肝臓・肺・脾臓ではわずかな発現であるが、腸、特に十二指腸では高値を示す。*P. acnes* 単独投与では IL-18 濃度がさらに上昇する。*P. acnes*/LPS 処理した WT マウスにおいては肝臓と脾臓で上昇するが腸では明らかに減少する。③ Clo-lip 前投与によっても各臓器の IL-18 濃度に影響はない。④ K5/IL-18TG マウスでは、血清 IL-18 濃度が有意に高値を示す。*P. acnes*/LPS 処理により血清、口腔組織（唾液腺・下顎骨・舌）、胸腺で IL-18 の著しい上昇を認める。さらに、唾液腺と胸腺の障害を誘導する。

以上の結果より、*in vivo* において血中の IL-18 はマクロファージに由来しないことが示唆された。また、口腔領域において、IL-18 の過剰発現が唾液腺等の障害に関与している可能性をも示唆する。

以上、本研究成果は IL-18 と唾液腺疾患に係る今後の研究および臨床に寄与することが多大である。よって本研究は、博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。なお、本研究は口腔分子制御学分野、菅原俊二教授の指導の下に達成されたものであり、厚く御礼申し上げます。