

【要約】

A role of NF- κ B1 in keratinocytes in the pathogenesis of psoriasis

(乾癬の病態形成におけるケラチノサイト内 NF- κ B1 の役割の解明)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：中島裕史教授)

矢部 遥子

【目的】

乾癬は、皮下への炎症細胞浸潤とケラチノサイトの異常増殖を特徴とする原因不明の炎症性皮膚疾患である。未知の刺激により活性化された樹状細胞由来の IL-23 が Th17 細胞分化を誘導し、Th17 細胞から産生された IL-17A がケラチノサイトに作用して、炎症性ケモカインの分泌、抗菌ペプチドの産生、そして、ケラチノサイト自身の増殖を誘導し、病態の悪化に寄与していることが知られている。IL-17A に対する中和抗体が臨床における乾癬治療の中心になっていることも、IL-17A によるケラチノサイトの活性化が乾癬病態形成の本態であることを示唆している。

近年、乾癬の疾患感受性遺伝子として *Nfkb1* が同定された。これまで我々は NF- κ B1 が IL-17A を産生する V γ 4+V δ 4+ γ δ T17 細胞の分化を誘導することにより乾癬の発症に重要な役割を果たしていることを報告したが、乾癬病態形成におけるケラチノサイト内 NF- κ B1 の役割については不明であった。そこで本研究では、ケラチノサイト内 IL-17A-NF- κ B1 経路の乾癬病態形成における役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】

1) 野生型マウス由来の骨髄を放射線照射した野生型(WT)あるいは *Nfkb1* 欠損マウス(KO)に移植したのち、イミキモド(IMQ)誘導性乾癬皮膚炎を誘導し、病理組織、PASI(psoriasis area and severity index) score を指標に皮膚の炎症強度を比較した。2) WT マウス、KO マウス皮膚に IL-17A を皮内注射し表皮の肥厚を比較した。3) WT マウス、KO マウスよりケラチノサイトを単離し、BrdU assay によって IL-17A 刺激による細胞増殖を比較した。4) WT マウス、KO マウスよりケラチノサイトを単離後 IL-17A 刺激を加え、乾癬の病態形成に関わる遺伝子群について qPCR で発現を評価した。5) IL-17 レセプターを介したケラチノサイトにおけるシグナル伝達をウエスタンブロッティングで解析した。6) IL-17A-NF- κ B1 誘導性遺伝子発現について RNA-seq で網羅的に解析した。7) 6)で得られた IL-17A-NF- κ B1 誘導性と考えられる標的遺伝子 *Ptk6* の遺伝子ならびに PTK6 タンパク発現を、ヒト乾癬及び乾癬マウスモデルの皮膚組織において qPCR、ウエスタンブロッティング、免疫染色にて確認した。8) CRISPR-Cas9 system を用いて *Ptk6* 欠損マウスを樹立し、IMQ 誘導性皮膚炎を惹起し炎症強度を評価した。9) IMQ 誘導性皮膚炎に対する PTK6 阻害薬の効果を評価した。

【結果・考察】

1) IMQ 誘導性皮膚炎は KO レシピエントマウスで WT レシピエントマウスに比して減弱していた。2) IL-17A 誘導性表皮肥厚は KO マウスで減弱していた。3) WT マウス由来ケラチノサイトでは IL-17A 刺激により細胞増殖が誘導されたが、KO マウス由来のものでは細胞増殖が認められなかった。4) WT マウス由来ケラチノサイトでは IL-17A 刺激により乾癬発

症時に表皮内で発現するケモカイン、抗菌ペプチド、サイトカインの発現が上昇していたが KO マウス由来ケラチノサイトでは見られなかった。5) WT マウス由来ケラチノサイトでは IL-17A 刺激により NF- κ B canonical pathway が活性化され、NF- κ B1 のリン酸化と NF- κ B1 の p105 分子から p50 分子への限定分解がみられ、RelA と p50 分子が核内移行した。一方、KO マウス由来ケラチノサイトでは、NF- κ B1 タンパクの発現は認めず、RelA の核内移行が低下した。6) ケラチノサイト内で IL-17A-NF- κ B1 経路により発現誘導される遺伝子としてチロシンキナーゼ分子 *Ptk6* が同定された。7) IMQ 誘導性乾癬モデルマウスならびにヒト乾癬の皮膚では *Ptk6* 遺伝子、PTK6 タンパクが高発現していた。8) CRISPR-Cas9 system により 2 系統の *Ptk6* 欠損マウスを樹立した。*Ptk6* 遺伝子欠損マウスでは IMQ 誘導性皮膚炎の減弱化が認められた。9) PTK6 阻害薬の皮膚塗布により IMQ 誘導性皮膚炎は減弱する傾向にあった。以上の結果より、IL-17A-NF- κ B1 経路は PTK6 の誘導を介して乾癬の病態形成に関与しており、PTK6 阻害は新たな乾癬治療の標的となり得る可能性が示唆された。

【結論】

ケラチノサイト内 NF- κ B1 は IL-17A 刺激により PTK6 を発現誘導し、乾癬の病態形成に重要な役割を果たしている。