

論文内容要旨

IL-1 β Enhances Wnt Signal by Inhibiting DKK1

(IL-1 β は DKK1 を抑制することにより

Wnt シグナルを活性化する)

Inflammation, 2018, in press.

主指導教員：杉山 英二教授

(広島大学病院 リウマチ・膠原病科)

副指導教員：正木 崇生教授

(広島大学病院 腎臓内科)

副指導教員：今泉 和則教授

(医歯薬保健学研究科 分子細胞情報学)

吉田 雄介

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

自己炎症性疾患の一つであるクリオピリン関連周期熱症候群(Cryopyrin-associated periodic syndrome: CAPS)では、*NLRP3* 遺伝子がコードする蛋白質クリオピリン (Cryopyrin) の機能異常により、インフラマソーム (inflammasome) とプロカスペーゼ-1 (procaspase-1) の活性化による炎症性サイトカイン IL-18 の過剰産生が病態に深く関わっている。その分子機序はヒト抗 IL-18 モノクローナル抗体であるカナキヌマブが著効することからも臨床的に証明されたと言える。CAPS には3つの型があり、その中でも最重症型である慢性乳児神経皮膚関節症候群 (Chronic infantile neurologic cutaneous, and articular syndrome : CINCA 症候群) は、新生児期発症多臓器系炎症性疾患 (Neonatal onset multisystem inflammatory disease : NOMID) とも呼ばれ、皮疹、中枢神経系病変、関節症状を3主徴とする。これらの病態は生後間もなく発症し、生涯にわたり持続する。皮膚病変の病理学的特徴が IL-18 によって制御されている好中球浸潤を特徴とする炎症性病態であるのに対して、関節病変は軟骨内骨化による骨過形成を特徴とする関節変形であり、IL-18 による病態としては炎症背景がないことから、その詳細な機序は不明とされてきた。

NOMID / CINCA における関節病変の病理学的特徴は、別の遺伝性疾患である fibrous dysplasia に類似している。fibrous dysplasia は *GNAS* 遺伝子の機能獲得型突然変異によってもたらされるが、この変異は Wnt シグナルの異常な活性化を導くことが知られている。Wnt シグナルはこれと拮抗する分泌蛋白質 Dickkopf-1 (DKK1) と共に、骨芽細胞、軟骨細胞の分化を調整していることが示唆されている。

NOMID / CINCA における過剰な IL-18 が、fibrous dysplasia の原因である Wnt シグナルの活性化をもたらすことで、これら2つの疾患が類似した病理学的表現形をもたらしていると仮定し、これを証明するために、本研究では IL-18 の Wnt シグナルに対する効果を検討した。

最初に、関節滑膜組織の主たる構成細胞である線維芽細胞様滑膜細胞 (fibroblast-like synoviocytes: FLS) における *Wnt* mRNA と Wnt antagonist である *DKK1* mRNA の発現を real time PCR で確認した。FLS は Articular Engineering より購入した関節リウマチ由来のものを使用した。FLS は *WNT3A* 以外の canonical、non-canonical いずれの *Wnt* mRNA を発現する一方、*DKK1* mRNA も発現していた。FLS と骨肉腫細胞株 U2OS 細胞からの DKK1 の産生を ELISA で測定すると、FLS は DKK1 を産生していた。しかし、U2OS 細胞では DKK1 の発現は極めて低く、ELISA では検出レベル以下であったため、後の T cell factor (TCF) レポーターアッセイ用の細胞として用いた。次に、U2OS 細胞に FLS 上清を加えると、リコンビナント *Wnt3A*、あるいは塩化リチウムによる TCF レポーターの活性化を抑制した。この活性化は抗 DKK1 抗体により減弱した。IL-6 は DKK1 の発現を抑制することが報告されているが、IL-18 も DKK1 産生を抑制し、その効果は IL-6 より顕著であった。さらに、TCF レポーターを用いて、IL-18 もしくは IL-6 の Wnt シグナルに対する効果を検討した。IL-18 または IL-6 で培養した FLS の上清は、未処理の FLS の上清と比較して、Wnt シグナルに対する抑制効果が減少し

たが、その抑制減少効果は IL-6 より IL-18 の方が顕著であった。

今回得られた結果は、IL-18 が DKK1 産生を抑制することで、Wnt シグナルを活性化することを示唆していた。この知見は、CINCA/NOMID の関節病態を形成する要因として、IL-18 による DKK1 抑制を介した Wnt シグナルの異常活性化が関与している可能性があると考えられた。