OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	11β-Hydroxysteroid dehydrogenase 1 contributes to the pro-inflammatory response of keratinocytes
Author(s)	越智, 沙織
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51917
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	越智　沙織
論文題名 Title	11β-Hydroxysteroid dehydrogenase 1 contributes to the pro-inflammatory response of keratinocytes. (皮膚炎症における表皮角化細胞の11β-Hydroxysteroid dehydrogenase 1の役割について)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

内因性のグルココルチコイド（コルチゾール）は、身体的・精神的ストレス時に視床下部-下垂体-副腎（HPA系）から産生される必須ホルモンである。近年、HPA系を介してだけではなく、各臓器においてもコルチゾールが産生することが報告されている。皮膚局所に関しても、*de novo*合成系やコルチゾール再活性化酵素（11β-Hydroxysteroid dehydrogenase1; 11β-HSD1）によって、HPA系以外からコルチゾールが産生されることが明らかにされた。11β-HSD1は細胞内で不活型コルチゾンから活性型コルチゾールに変換する酵素である。我々は、11β-HSD1が表皮角化細胞で発現し、表皮の増殖を負に調節する働きがあることを報告した。表皮角化細胞における11β-HSD1と皮膚炎症に関する報告はない。今回、皮膚炎症における表皮角化細胞の11β-HSD1の役割について検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

はじめに、我々は培養正常ヒト表皮角化細胞に様々な刺激を加え、11β-HSD1の動態を検討した。炎症性サイトカイン（IL-1β、TNFα）やUVB、ハプテン（TNBS）を負荷し、1時間後の11β-HSD1の発現をRT-PCR、24時間後の11β-HSD1の発現をWestern blottingにて測定した。培養正常ヒト正常表皮角化細胞の11β-HSD1の発現は各種炎症刺激により誘導された。また、これらの刺激によって細胞上清中のコルチゾール濃度をELISAで測定し、増加することがわかった。

次にsi RNAのトランスフェクションによって、培養正常ヒト表皮角化細胞の11β-HSD1をノックダウンさせ、IL-1β、TNFαを負荷し、メッセージレベルでは1時間後に、タンパクレベルでは24時間後に回収し、それぞれIL-6、IL-8の発現を評価した。メッセージレベルでは、コントロールと比べて、11β-HSD1をノックダウンさせた培養正常ヒト表皮角化細胞ではIL-1β・TNFαを負荷後のIL-6、IL-8の発現は減弱した。同様にタンパクレベルでも11β-HSD1をノックダウンさせた培養正常ヒト表皮角化細胞ではIL-1β・TNFαを負荷後のIL-6、IL-8の産生は減少した。

さらに、我々は表皮角化細胞内のコルチゾール濃度に着目し、細胞内のコルチゾール濃度に依存して、炎症性サイトカイン刺激後、炎症応答としてサイトカインの発現量が変化するかを検討した。我々は培養正常ヒト表皮角化細胞に様々な濃度のコルチゾールを添加し、炎症性サイトカイン（IL-1β、TNFα）負荷後1時間後のIL-6、IL-8の発現をRT-PCRで検討した。結果、100nMの高濃度コルチゾール環境下ではIL-6、IL-8の発現を抑え、0.1nMの低濃度コルチゾール環境下ではIL-6、IL-8の発現を増強させた。

〔総　括(Conclusion)〕

表皮角化細胞においてTNFα・TNBS・UVBなどの様々な刺激は、11β-HSD1の発現を誘導した。
11β-HSD1をノックダウンさせた表皮角化細胞では炎症性サイトカイン（IL-1β、TNFα）の刺激後IL-6、IL-8の発現が抑制した。よって、コルチゾールを活性化する11β-HSD1は細胞内のコルチゾールの濃度を調整し、IL-1β、TNFαの刺激で、コルチゾール濃度依存性にIL-6、IL-8の発現量を調節し、炎症応答が変動する可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　越智　沙織

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	片山一朗
副　査	大阪大学教授	板見智
副　査	大阪大学教授	玉井克人

論文審査の結果の要旨

近年、各臓器においてもコルチゾールが産生することが報告されている。11β-HSD1は細胞内で不活型コルチゾンから活性型コルチゾールに変換する酵素である。今回、皮膚炎症における表皮角化細胞の11β-HSD1の役割について検討した。

はじめに、我々は培養正常ヒト表皮角化細胞(NHEKs)に様々な刺激を加え、11β-HSD1の動態を検討した。培養正常ヒト正常表皮角化細胞の11β-HSD1の発現は炎症性サイトカイン（IL-1β、TNFα）やUVB、ハプテン（TNBS）などの各種炎症刺激により誘導された。また、これらの刺激によって細胞上清中のコルチゾール濃度も増加することがわかった。

次にsi RNAのトランスフェクションによって、NHEKsの11β-HSD1をノックダウンさせ、IL-1β、TNFαを負荷し、それぞれIL-6、IL-8の発現を評価した。メッセージ・タンパクレベルともに、コントロールと比べて、11β-HSD1をノックダウンさせたNHEKsではIL-1β・TNFαを負荷後のIL-6、IL-8の発現は減弱した。

さらに、我々は表皮角化細胞内のコルチゾール濃度に着目し、細胞内のコルチゾール濃度に依存して、炎症性サイトカイン刺激後、炎症応答としてサイトカインの発現量が変化するかを検討した。我々はNHEKsに様々な濃度のコルチゾールを添加し、炎症性サイトカイン（IL-1β、TNFα）負荷後1時間後のIL-6の発現をRT-PCRで検討した。結果、100nMの高濃度コルチゾール環境下ではIL-6の発現を抑え、0.1nMの低濃度コルチゾール環境下ではIL-6の発現を増強させた。

よって、コルチゾールを活性化する11β-HSD1は細胞内のコルチゾールの濃度を調整し、皮膚への炎症刺激で、コルチゾール濃度依存性にIL-6、IL-8の発現量を調節し、炎症応答を促進させ、生体内の恒常性の維持に重要と考えられた。

今回の審査で、表皮角化細胞のコルチゾール濃度でサイトカインの発現がかわること、その意義に対して討論した。今後は生体内の表皮特異的11β-HSD1ノックアウトマウスにおける炎症に対する応答を検討していく必要があると考える。

よって、上記論文を学位に値するものと認める。