

氏名(本籍)	わか まつ えい (宮崎県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第4766号
学位授与年月日	平成20年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Overexpression of Phosphorylated STAT-1 α in the Labial Salivary Glands of Patients With Sjögren's Syndrome (シェーグレン症候群患者唾液腺におけるリン酸化STAT-1 α の過剰発現)
主査	筑波大学教授 医学博士 二宮 治彦
副査	筑波大学准教授 薬学博士 伊東 進
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 渋谷 和子
副査	筑波大学講師 博士(医学) 加治 優一

論文の内容の要旨

(目的) シェーグレン症候群(SS)は、慢性唾液腺炎と乾燥性角結膜炎を主徴とすし、多彩な自己抗体の出現や高 γ -グロブリン血症をきたす自己免疫性疾患の1つである。病理学的には、唾液腺や涙腺の導管、腺房周囲にCD4陽性T細胞を主体とするリンパ球浸潤が認められ、T細胞がSSの発症に強く関わっていることが指摘されている。しかしながら、発症および病態の進行には未だ不明な点が多数ある。腺組織における破壊と機能障害の分子メカニズムを明らかにするために、現在までにSS患者の病変局所での発現解析、および発現遺伝子のスクリーニング解析が行われ、IFN γ -inducible genesの発現増加が認められた。また、我々がSS患者唾液腺を用いて、cDNAアレイ解析を行った結果からも同様にsignal transducer and activator of transcription 1 (STAT-1)を含めたIFN γ -inducible genesの発現増加が認められ、SSの発症、および進行にIFN γ のシグナリングが重要な役割を果たしていることが示唆された。そこで、我々はIFN γ シグナリングのメディエーターであるSTAT-1に着目した。現在までにSTAT-1は、関節リウマチや自己免疫性糖尿病などとの関連性が報告され、自己免疫性疾患においてSTAT-1がエフェクター、もしくは抑制分子として機能していることが示唆されている。また、STAT-1欠損マウス、およびトランスジェニックマウスを用いた研究によって、TH1タイプT細胞を介した肝炎においてSTAT-1を介したシグナリングはエフェクターとして重要な役割を果たしていることが明らかとなっている。SS発症および進行にTH1タイプT細胞が重要な役割を果たしていることが示唆されており、STAT-1がエフェクター分子として機能している可能性が考えられる。本研究では、SSの病態におけるIFN γ -STAT-1シグナリングの役割を明らかにするために、SS患者唾液腺を用いて検討を行った。

(対象と方法) 1) Real-time PCR法を用いて、SS患者12例、健常人(HS)10例の唾液腺組織における、STAT-1 α 、およびSTAT-1 β mRNAの発現解析を行った。2) 抗STAT-1、抗チロシンリン酸化STAT-1、および抗セリンリン酸化STAT-1抗体を用いて、Western-blot法でSTAT-1蛋白の発現を検討した。3) 唾液腺における活性化STAT-1の局在を確認するため、抗チロシンリン酸化STAT-1、および抗セリンリン酸化STAT-1抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。4) IFN γ -inducible genesについて、発現および局在の検

討を行った。

(結果) 1) STAT-1 α , STAT-1 β mRNA 共に, HS 唾液腺と比較して, SS 唾液腺で有意に発現が増強していた。2) HS 唾液腺と比較して, SS 唾液腺で STAT-1 α 蛋白の発現が増加していた。STAT-1 β 蛋白の発現は同定できなかった。さらに, SS-LSG で STAT-1 のチロシン, およびセリンリン酸化が確認された。3) SS 唾液腺において, 浸潤細胞では STAT-1 のチロシンリン酸化が, 導管ではチロシン及びセリンのリン酸化が確認された。一方で, HS 唾液腺ではチロシン, セリンリン酸化共にほとんど認められなかった。4) IFN γ -inducible genes (IP-10, IRF-1, Fas) は, SS で発現が増強し, 特にセリンリン酸化陽性細胞で認められた。

(考察) 本研究から, SS 唾液腺において, STAT-1 α mRNA, および蛋白の強発現が認められた。一方で STAT-1 β は mRNA レベルで高い発現を認めたにも関わらず, 蛋白レベルの発現は低値を示した。STAT-1 β は STAT-1 α の C 末端が transactivation domain (TAD) とリン酸化部位のひとつであるセリン残基を含む 38 アミノ酸が欠損したスプライシングバリエントである。TAD が欠損しているため, 転写活性を有しておらず STAT-1 α のアンタゴニストと考えられている。mRNA と蛋白の解析から, SS 患者唾液腺において, STAT-1 α と STAT-1 β のバランスが崩れていることが考えられ, その結果 STAT-1 α の過剰な活性化が引き起こされていることが示唆される。また, 免疫組織化学染色の結果から, 唾液腺導管上皮細胞で STAT-1 α のチロシン, およびセリンのリン酸化が認められ, セリンリン酸化陽性細胞と IFN-inducible genes との共局在していた。これらのことから, SS 唾液腺において STAT-1 を介したシグナリングによって, アポトーシス, および細胞遊走因子が誘導されている可能性が示唆された。STAT-1 α の過剰な活性化が SS の発症, および進行に重要な役割を果たしていることが示唆された。

審査の結果の要旨

1. SS 唾液腺における STAT-1 α , β の過剰発現があること, 特にセリンリン酸化が有意に認められることは明らかにされている。Tyr リン酸化, Ser リン酸化の相違に関するメカニズムについては不明のままである。
2. アポトーシスとの関連性を示唆しているが, IFN を介しての唾液腺のアポトーシスがもたらされるシグナリングにおいて STAT-1 α (特にセリンリン酸化) が直接に関与するか否かについては示されていない。
3. SS の唾液腺において外分泌障害の病理的基盤を形成する腺細胞の繊維化 (アポトーシスの結果) を引き起こす細胞内のシグナリングの重要な分子の少なくとも一部を明らかにしたことは明らかである。

学位論文審査委員会において審査委員全員の出席のもとに最終試験を行い, 論文について説明をもとめ, 関連事項について質疑応答を行った結果, 審査委員全員によって合格と判定された。

よって, 著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。