

氏名	江辺 広志
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第 8695号
学位授与年月	平成 30年 3月 23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	Clinical and functional significance of STEAP4-splice variant in CD14 <sup>+</sup> monocytes in patients with rheumatoid arthritis

（関節リウマチ患者における STEAP4 及びその変異体の発現と機能解析）

主査	筑波大学教授	博士（医学）	渋谷 彰
副査	筑波大学教授	博士（医学）	土屋 尚之
副査	筑波大学講師	博士（医学）	矢藤 繁
副査	筑波大学講師	博士（医学）	沖山 奈緒子

## 論文の内容の要旨

江辺広志氏の博士学位論文は、関節リウマチ患者の単球に発現する STEAP4 とその変異体の発現様式と関節リウマチ病態におけるこれらの機能を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

### （目的）

TNF $\alpha$ -induced adipose-related protein (TIARP)は関節炎モデルマウスの単球、滑膜、好中球で高発現しており、炎症に対して抑制的に働いている。TIARP のヒトホモログである six transmembrane epithelial antigen of prostate 4 (STEAP4)は関節リウマチ (RA) 患者の CD14 陽性単球で健常人に比べ発現量が増加しており、近年ブタ肺臓では STEAP4 のエクソン 3 欠損変異体 (v-STEAP4)が高発現していることが報告された。著者は、RA 患者の単球における STEAP4 及び v-STEAP4 の発現と RA 病態における機能を明らかにすることを本研究の目的としている。

### （対象と方法）

著者は、以下のような方法を用いて、研究を行なっている。すなわち、1) 健常者および RA 患者 CD14 陽性単球を用いて、v-STEAP4 発現を PCR-sequence 法で解析し、定量 PCR にてその発現を比較した。2) RA 患者の CD14 陽性単球で、STEAP4 及び v-STEAP4 の発現と臨床検査情報との相関について検討した。3) RA 患者の CD14 陽性単球で、STEAP4 及び v-STEAP4 の IL-6 拮抗薬治療前後の発現を比較した。4) ヒト単球系細胞株である THP-1 に STEAP4 と v-STEAP4 遺伝子をそれぞれ導入して過剰発現株を作成した。5) LPS 刺激による炎症性サイトカイン産生への影響を Cytometric Bead Array (CBA)で検討した。6) 過剰発

現させた STEAP4 及び v-STEAP4 が toll-like receptor 4 (TLR4) の下流シグナルへ与える影響について免疫プロット法で検討した。7) NF  $\kappa$  B 阻害薬と STAT3 阻害薬の投与によるサイトカイン産生に与える影響を検討した。

#### (結果)

著者は、本研究で以下のような結果を得ている。すなわち、1) v-STEAP4 がマウス TIARP と同様にヒトでも存在した。STEAP4 及び v-STEAP4 の発現量、v-STEAP4/STEAP4 比は RA 患者において健常者より増加していた。2) STEAP4 は CRP、ESR に対して正の相関、v-STEAP4 は CRP、RF と正の相関を示した。3) IL-6 阻害薬投与後、STEAP4 及び v-STEAP4 の発現量は低下していた。4) STEAP4 及び v-STEAP4 過剰発現細胞株を作成した。5) v-STEAP4 により LPS 刺激に伴う TNF  $\alpha$  産生が増強しており、IL-6 産生が抑制されていた。6) LPS 下流のシグナル伝達物質の検討では、v-STEAP4 により NF- $\kappa$ B のリン酸化は増強、I  $\kappa$ B  $\alpha$  の degradation は遷延し、一方で STAT3 のリン酸化は抑制されていた。7) NF  $\kappa$  B のリン酸化を抑制することで TNF  $\alpha$  産生が抑制され、STAT3 のリン酸化を抑制することで IL-6 産生が抑制された。

#### (考察)

著者は、得られた上記の結果から、以下のような考察を行っている。すなわち、本研究でヒト単球において v-STEAP4 が存在し、健常者と比べ RA 特異的に発現が増加していることが見出されたことから、RA における STEAP4 及びその変異体は CRP や ESR といった炎症マーカーと正の相関を示すこと、一方で IL-6 阻害薬の治療後に低下することからこれらの分子は RA の炎症によって誘導されている可能性が示唆された。また、その機能を解析するために、ヒト単球系細胞株に STEAP4 と v-STEAP4 をそれぞれ過剰発現させたところ、興味深いことに v-STEAP4 は TNF  $\alpha$  産生を有意に増加させたのに対して、IL-6 産生を抑制したこと、また TIARP KO マウスが関節炎を自然発症することから、スプライシングを受けた v-STEAP4 が STEAP4 よりも機能的に重要であり、単球細胞内の STAT3 のリン酸化抑制を介して RA 病態に抑制的に働くことが示唆された。一方で、TNF  $\alpha$  の産生経路に対しては相反する効果を示しており、今後は関節炎モデルマウスで TIARP 変異体を過剰発現させるなどの検討が必要であることも考察している。

#### (結論)

著者は、本研究により v-STEAP4 が RA 単球で炎症に伴い増加しているだけでなく、細胞内シグナルを介してサイトカイン産生を制御することを示唆している。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本論文は、関節リウマチ患者の単球において、健常人単球に比較し、STEAP4 の変異体が高発現し、炎症生サイトカインの産生と正の相関を示すこと、また炎症生サイトカイン産生へのシグナル伝達機構に STEAP4 の変異体が関与し、これを制御する可能性を世界で初めて明らかにした論文で、きわめて質の高い研究成果である。

平成 30 年 1 月 15 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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