

論文内容要旨

Human Gain-of-Function *STAT1* Mutation disturbs

IL-17 Immunity in Mice

(*STAT1* 機能獲得型変異導入マウスでの IL-17 免疫
経路の障害)

International Immunology, in press.

主指導教員：工藤 美樹教授
(医系科学研究科 産科婦人科学)

副指導教員：秀 道広教授
(医系科学研究科 皮膚科学)

副指導教員：川口 浩史 講師
(広島大学病院 小児科)

玉浦 萌

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

論文内容要旨

慢性皮膚粘膜カンジダ症 (CMCD) は、皮膚、爪、口腔・外陰部などの粘膜に、難治性、反復性の *Candida albicans* (*C. albicans*) 感染を呈する原発性免疫不全症であり、約半数の CMCD 患者で STAT1 の機能獲得型変異 (GOF 変異) が同定されている。STAT1-GOF 変異を持つ患者は常染色体優性遺伝を呈し、IFN- γ などの刺激によって STAT1 の過剰なリン酸化を認める。また、IL-17 産生障害を呈するために、*C. albicans* への易感染性を持つと考えられているが、IL-17 産生障害が生じる分子病態に関しては不明な点が多い。本研究では、STAT1-GOF 変異を有する CMCD の病態を解析するために、ヒトと相同性のある STAT1-GOF 変異 (R274Q 変異) を導入したノックインマウスを作製した。ヘテロ接合型ノックインマウスは一定の表現型を呈したが、より表現型が強く機能解析に適したホモ接合型マウス (GOF-Stat1^{R274Q} マウス) を中心に検討した。

STAT1-GOF 変異 CMCD は、Th17 細胞減少が特徴的所見であるので、恒常的に Th17 細胞を発現しているマウス小腸粘膜固有層リンパ球 (SI-LPL) を解析対象とした。GOF-Stat1^{R274Q} マウス由来の SI-LPL の CD4⁺ T 細胞は、野生型に比し、抗原・サイトカイン刺激がない定常状態での STAT1 蛋白の発現亢進、IFN- γ 刺激下での STAT1 のリン酸化亢進が認められた。SI-LPL の CD4⁺ T 細胞における STAT1 蛋白は、FACS 蛍光強度から、野生型マウスと同等の発現量であり、IFN- γ 刺激により野生型よりも過剰なリン酸化を示す集団 (Basal-STAT1) と、野生型マウスよりも過剰に発現しつつ、IFN- γ 刺激によるリン酸化亢進は認めない集団

(Inducible-STAT1) に分類された。GOF-Stat1^{R274Q} マウスでは、IFN- γ 刺激による Basal-STAT1 蛋白の過剰なリン酸化が認められるのに対し、Inducible-STAT1 では有意なリン酸化亢進はみられなかった。GOF-Stat1^{R274Q} マウスでは、SI-LPL における Th17 細胞の絶対数減少ならびに IL17 産生異常が認められた。これは Th17 細胞分化に必須である ROR γ t の発現低下による分化障害によるものと考えられた。これらの結果から、GOF-Stat1^{R274Q} マウスの SI-LPL は CMCD 患者末梢リンパ球と同様の表現型を示していた。さらに、RNA-seq による SI-LPL の CD4⁺ T 細胞の解析では GOF-Stat1^{R274Q} マウスにおいて、*Rorc*、*Ccr6*、*Il2* の発現低下と *Stat1*、*Ifng*、*Tbx21* の過剰発現が認められた。

次に、*C. albicans* への易感染性を評価する為に、*C. albicans* の経胃投与を行った。感染 3 週間後の SI-LPL を用いた解析で、GOF-Stat1^{R274Q} マウスでは野生型マウスと比較して、SI-LPL CD4⁺ T 細胞での IL-17A 産生低下および ROR γ t 発現抑制を認めた。また、GOF-Stat1^{R274Q} マウスでは、小腸上皮細胞における IL-17A 産生低下に起因する抗菌ペプチド、 β defensin 3 の発現低下が認められた。GOF-Stat1^{R274Q} マウスの小腸粘膜上皮細胞には *C. albicans* が検出され、糞便中における *C. albicans* DNA 量増加が認められた。これらの結果から、*C. albicans* 感染後においても、GOF-Stat1^{R274Q} マウスでは、小腸由来の Th17 細胞の分化障害による IL-17A 産生障害が、*C. albicans* の排除機構障害の原因と考えられた。定常下および *C. albicans* 感染後での SI-LPL の CD4⁺ T 細胞において、Th17 分化に関連する遺伝子である *Tbx21*、*Ifng1*、*Il27ra*、*Stat3*、*Socs3* の発現を比較検討した結果、定常下では野生型マウ

スと GOF-*Stat1*^{R274Q} マウスでは差を認めなかった。一方、*C. albicans* 感染後には、GOF-*Stat1*^{R274Q} マウスにおいて、*Tbx21* のみ発現上昇を認められ、*Tbx21* にコードされる T-bet の発現増加を認めた。T-bet は ROR γ t の抑制因子であることから、GOF-*Stat1*^{R274Q} マウスでの Th17 細胞の分化障害に関与していると考えた。

以上から、本研究では GOF-*Stat1*^{R274Q} マウスでの *C. albicans* 排除障害に Th17 分化障害が重要な役割を果たすとともに、今回樹立した GOF-*Stat1*^{R274Q} マウスは Th17 免疫応答を中心とした、CMCD の病態解明に有用であることを示した。