

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医 学 ）	氏名	玉 浦 萌
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Human Gain-of-Function <i>STAT1</i> Mutation disturbs IL-17 Immunity in Mice ( <i>STAT1</i> 機能獲得型変異導入マウスでの IL-17 免疫経路の障害)			
論文審査担当者			
主 査	教授	保 田 朋波流	印
審査委員	教授	杉 山 英 二	
審査委員	教授	神 沼 修	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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 <i>Candida albicans</i> (<i>C. albicans</i>) 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 <i>STAT1</i> の機能獲得型変異（GOF 変異）が同定されている。<i>STAT1</i>-GOF 変異を持つ患者は常染色体優性遺伝を呈し，IFN-<math>\gamma</math> などの刺激によって <i>STAT1</i> 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，<i>C. albicans</i> 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，<i>STAT1</i>-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 <i>STAT1</i>-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-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup>マウス）を中心に検討した。</p> <p><i>STAT1</i>-GOF 変異 CMCD は，Th17 細胞減少が特徴的所見であるため，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-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup>マウス由来の SI-LPL の CD4<sup>+</sup> 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 <i>STAT1</i> 蛋白の発現亢進，IFN-<math>\gamma</math> 刺激下での <i>STAT1</i> のリン酸化亢進が認められた。SI-LPL の CD4<sup>+</sup> T 細胞における <i>STAT1</i> 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-<math>\gamma</math> 刺激により野生型よりも過剰なリン酸化を示す集団（Basal-<i>STAT1</i>）と，野生型マウスよりも過剰に発現しつつ，IFN-<math>\gamma</math> 刺激によるリン酸化亢進は認めない集団（Inducible-<i>STAT1</i>）に分類された。GOF-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup>マウスでは，IFN-<math>\gamma</math> 刺激による Basal-<i>STAT1</i> 蛋白の過剰なリン酸化が認められるのに対し，Inducible-<i>STAT1</i> では有意なリン酸化亢進は認めなかった。GOF-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup>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<math>\gamma</math>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-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup>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<sup>+</sup> T 細胞の解析では GOF-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup>マウスにおいて，<i>Rorc</i>，<i>Ccr6</i>，<i>Il2</i> の発現低下と <i>Stat1</i>，<i>Ifng</i>，<i>Tbx21</i> の過剰発現が認められた。</p> <p>次に，<i>C. albicans</i> への易感染性を評価する為に，<i>C. albicans</i> 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-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup> マウスでは野生型マウスと比較して，SI-LPL CD4<sup>+</sup> T 細胞での IL-17A 産生低下および ROR<math>\gamma</math>t 発現抑制を認めた。また，GOF-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup>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，<math>\delta</math>defensin 3 の発現低下が認められた。GOF-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup> マウスの小腸粘膜上皮細胞には <i>C. albicans</i> が検出され，糞便中における <i>C. albicans</i> DNA 量増加が認められた。これらの結果から，<i>C. albicans</i> 感染後においても，GOF-<i>Stat1</i><sup>R274Q</sup> 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，<i>C. albicans</i> の排除機構障害の原因と考えられた。定常下および <i>C. albicans</i> 感染後での SI-LPL の CD4<sup>+</sup> T 細胞において，</p>			

Th17 分化に関連する遺伝子である *Tbx21*、*Ifngr1*、*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*<sup>R274Q</sup> マウスでは差を認めなかった。一方、*C. albicans* 感染後には、GOF-*Stat1*<sup>R274Q</sup> マウスにおいて、*Tbx21* のみ発現上昇が認められ、*Tbx21* にコードされる T-bet の発現増加を認めた。T-bet は ROR $\gamma$ t の抑制因子であることから、GOF-*Stat1*<sup>R274Q</sup> マウスでの Th17 細胞の分化障害に関与していると考えられた。

以上から、本研究では GOF-*Stat1*<sup>R274Q</sup> 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*<sup>R274Q</sup> 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。

以上の結果から、本論文は *STAT1*-GOF 変異 (R274Q 変異) を導入したノックインマウスを樹立することで、本変異が動物個体において CD4<sup>+</sup> T 細胞の分化や機能の異常、とりわけ Th17 細胞の分化障害に直接関与することを初めて証明した。これにより本研究で樹立された *STAT1*-GOF 変異導入マウスが CMCD の病態解明ならびに新規治療法開発に貢献し得るものと考えられた。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。