

Title	Signal-transducing adaptor protein-2 regulates macrophage migration into inflammatory sites during dextran sodium sulfate induced colitis
Author(s)	藤田, 奈津子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51952
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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	藤田 奈津子
論文題名 Title	Signal-transducing adaptor protein-2 regulates macrophage migration into inflammatory sites during dextran sodium sulfate induced colitis (デキストラン硫酸ナトリウム誘発性腸炎においてsignal-transducing adaptor protein-2はマクロファージの炎症部位への浸潤を調節する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 Signal transducing adaptor protein-2 (STAP-2)は、pleckstrin homology domainやSrc-homology 2 domainといったアダプタータンパクに特徴的な構造をもつ細胞内タンパク質であり、生体内でユビキタスに発現している。STAP-2はc-fms/M-CSF結合タンパクとして同定され、免疫・炎症を調節する機能が報告されてきた。例えば、STAP-2欠損マクロファージではlipopolysaccharide (LPS) 刺激によるTNFα、IL6発現が減少し、創傷治癒が亢進する。STAP-2欠損T細胞はCXCL12に対する遊走能の低下やIL2反応性増殖の亢進、アポトーシス抵抗性を示す。その機序としてはSTAP-2がMyD88、IKK$\alpha$$\beta$、vav1、STAT5、caspase-8と直接結合しシグナルを調節することが分かっている。STAP-2ノックアウトマウス (KO) はactivation induced cell death感受性低下やIgE誘発性アナフィラキシーショックの重症化を示した。しかし慢性炎症性疾患におけるSTAP-2機能は未だ解明されていない。炎症性腸疾患はクローン病、潰瘍性大腸炎として知られ、その発症原因は遺伝、環境、粘膜機構と様々である。患者数は欧米に多く本邦でも増加傾向にあり、対処療法は存在するが根治不可能である。 そこで本研究は炎症性腸疾患モデルを用いて個体レベルの免疫・炎症応答におけるSTAP-2の役割を明らかにすることを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 疾患モデルとして潰瘍性大腸炎モデルであるdextran sodium sulfate (DSS) 誘発性腸炎を用いた。飲水に添加した1.75% DSSを、Wild type (WT)、STAP-2 KOに7日間自由摂取させ体重減少、肛門出血、組織切片観察によりDSS腸炎の重症度を評価した。結果、WTでは11%の体重減少を認めたが、STAP-2 KOでは1.6%に留まった。肛門出血に関しては、WTの80%が陽性であったのに対し、STAP-2 KOでは10%であった。DSS摂取開始7日目の大腸切片を用いたHE染色標本ではSTAP-2 KOの腸粘膜層の菲薄化・粘膜固有層への細胞浸潤がWTに比べ軽微であった。 腸炎の重症化はT細胞・マクロファージの働きによることが知られている。そこでDSS摂取開始3日目および7日目の大腸切片を用いた免疫組織染色により、CD3陽性T細胞とF4/80陽性マクロファージの粘膜固有層への浸潤について調べた。結果、STAP-2 KOでは浸潤T細胞数に差異を認めなかったが、浸潤マクロファージ数はWTの50%程度に抑制されていた。そこで、STAP-2 のマクロファージ遊走能への影響を調べるためにWT、STAP-2 KOから腹腔マクロファージを単離しCXCL12に対するケモタキシスアッセイを行った。CXCL12濃度勾配に従いチャンパー孔を透過したSTAP-2欠損マクロファージはWTの50%程度であった。 血球あるいは腸管由来STAP-2のどちらが腸炎重症化の原因であるかを明らかにするために、骨髓移植によりキメラマウスを作製しDSS腸炎を誘導した。致死量の放射線を照射したWTにSTAP-2 KO血球を移植・生着させたキメラマウスでは、DSS腸炎の重症度は緩和されたが統計学的に有意ではなかった。一方、STAP-2 KOにWT血球を移植・生着させたキメラマウスでは体重減少が有意に少なくDSS腸炎の軽症化が認められた。 炎症下での腸管上皮細胞のSTAP-2の影響を調べるためにWT、STAP-2 KOから腸管上皮細胞を単離してLPS刺激し、遺伝子発現を評価した。結果、STAP-2欠損腸管上皮細胞ではCXCL1発現が誘導されず、TNFα発現誘導が低下していた。 以上の結果より、STAP-2は腸管上皮細胞のTNFα、CXCL1 mRNA発現促進により炎症を惹起し同時にマクロファージの粘膜固有層への遊走を活性化させることが分かった。 〔総括(Conclusion)〕 本研究では、STAP-2 KOマウスを用いて炎症性腸疾患におけるSTAP-2の役割について検討した。DSS腸炎モデルにおいてSTAP-2欠損により腸管組織へのマクロファージ浸潤が抑制され、腸炎が軽症化した。その機序として、STAP-2はマクロファージの遊走を支持する一方で、腸管上皮細胞側のケモカインや炎症性サイトカインの分泌を促進していることが分かった。私は、本研究により、STAP-2が炎症性腸疾患の重症度に影響を与えることを明らかにした。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藤田 奈津子

論文審査担当者	(職) 氏 名	
	主 査 大阪大学教授	金 倉 譲
	副 査 大阪大学教授	竹 原 徹 郎
	副 査 大阪大学教授	竹 田 潔

論文審査の結果の要旨

Signal transducing adaptor protein-2 (STAP-2) はマクロファージの増殖刺激を伝達するM-CSFレセプターの結合タンパク質として同定され、今までの検討により免疫担当細胞機能を制御することが報告されている。藤田 奈津子氏は慢性炎症性疾患におけるSTAP-2の生体内機能の解明を目的とした。

Dextran sodium sulfate腸炎モデルを用いた解析では、STAP-2ノックアウトマウス (KO) はWTに比べて腸炎症状が軽微であった。この原因として、腸管上皮細胞の腸内細菌応答性ケモカイン遺伝子発現低下やSTAP-2欠損マクロファージの遊走能低下を示し、実際、STAP-2 KO大腸組織中の浸潤マクロファージ数も減少していた。

以上、藤田 奈津子氏は、STAP-2がマクロファージの遊走と腸管上皮細胞側の過剰な免疫応答に関わるシグナル惹起を介しクローン病や潰瘍性大腸炎といった炎症性腸疾患の重症化に影響を与えることを明らかにした。本研究は、炎症性腸疾患治療における標的分子候補としてSTAP-2を提唱することで今後の臨床応用への道を示したものであり、学位に値する。