



Title	STAT1 coiled-coil domain新奇優性阻害型変異によるMendelian susceptibility to mycobacterial diseasesの病態解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	植木, 将弘
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第12538号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/65889
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2279
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Masahiro_Ueki_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏 名 植木 将弘

主査 教授 村上 正晃
審査担当者 副査 教授 有川 二郎
副査 教授 渥美 達也
副査 教授 西村 正治

学 位 論 文 題 名

STAT1 coiled-coil domain 新奇優性阻害型変異による
Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases の病態解析
(Studies on novel heterozygous mutation in coiled-coil domain of *STAT1* in a patient with
Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases.)

Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases (MSMD) は Interferon (IFN) γ /Interleukin (IL) γ ・IL-23 シグナルに関連する蛋白の異常によりマイコバクテリアなどの細胞内寄生菌に易感染性を呈する疾患である。その中で *STAT1* 優性阻害型変異による MSMD (*STAT1*-AD-MSMD) は 7 家系の報告しかない非常に稀な疾患である。我々は *STAT1*-AD-MSMD の報告がない coiled-coil domain (CCD) に *de novo* アミノ酸置換を有した患者を経験し、病態解析を行った。

既報では EBV 不死化 B 細胞株 (EBV-LCL)、単球/マクロファージ系細胞、細胞株に強制発現させた変異蛋白のほぼ全てで IFN- γ シグナルの低下を認めたが、本患者では EBV-LCL で IFN- γ シグナルの低下を認めなかった。しかし、単球/マクロファージ系細胞と細胞株に強制発現させた変異蛋白では IFN- γ シグナルにおける優性阻害効果を認め、疾患との関連性が証明された。

STAT1 CCD には多数の機能獲得型変異が報告され、その中にマイコバクテリアに易感染性を呈した数例の患者が含まれていた。そこで、リン酸化 *STAT1* における変異アミノ酸残基の局在を評価したところ、優性阻害型変異と機能獲得型変異は局在が異なる事、マイコバクテリア感染を呈した機能獲得型変異と優性阻害型変異は局在が類似することが示唆された。

審査にあたり、副査の有川教授より①細胞内寄生菌にのみ易感染性を示す理由、②疾患の頻度と人種差、③悪性腫瘍と *STAT1* 変異の関連、④モデルマウス、について質問があった。申請者は①自然免疫と I 型 IFN シグナル活性は残存し、その他の感染には対応可能、②孤発例と家族例が半々で、明らかな人種差はない③悪性腫瘍との関連性は示唆されていないが、注目すべきと考える④*STAT1* 欠損および conditional knockout マウスは作成されているが、機能獲得型および優性阻害型変異のマウスは未作成で、作成により病態解析が進む可能性がある、と回答した。副査の渥美教授より①食細胞以外における *STAT1* 変異の影響、②変異蛋白の発現、③グリシンとアラニ

ンの生化学的な違い, ④患者 EBV-LCL での IP-10 産生上昇の意味・不死化した影響, ⑤マクロファージで LPS と IFN- γ の両方の刺激を行う意義, ⑥立体構造解析の方法, について質問があった. 申請者は①免疫細胞以外では明らかな症状・データは出ていない, ②変異非リン酸化 STAT1 蛋白がウェスタンブロッティング法で確認されている. アミノ酸解析は行っていないが変異体を発現するプラスミドを作成した, ③どちらも中性・疎水性アミノ酸で類似している, ④マクロファージの機能低下を代償している可能性がある. B 細胞での解析は行っておらず不死化の影響は未評価, ⑤IFN- γ と LPS の併用で相乗効果が見られる, ⑥立体構造は X 線結晶解析のデータベースを用いた. リン酸化に影響すると考えリン酸化モデルを採用したが, 続報の論文では非活性型モデルで局在がより顕著であり非活性型も評価すべきであった, と回答した. 副査の西村教授より①BCG リンパ節炎の頻度・MSMD を疑う手がかり・既報での診断までの経過・患者の自然歴, ②EBV-LCL での予想外の結果について, ③自己抗体の実験の意義, について質問があった. 申請者は①BCG リンパ節炎は稀ではないが播種性 BCG 感染, 特に骨髄炎は MSMD を強く疑う指標である. 非定型抗酸菌播種性感染も比較的若年で発症する. BCG リンパ節炎は発症まで 1 ヶ月~3 ヶ月, 播種性感染は 1 年程度かかり, 残存する IFN- γ シグナルの程度に影響を受ける. 完全欠損型以外は治療反応性も良好で予防投薬も不要な例が多い, ②既報に EBV-LCL で STAT1 リン酸化が低下しない報告が 1 例あり, 類似の変異と考え別系統の細胞での実験を進めた, ③STAT1 機能獲得型変異で抗 IL-17F 抗体が産生される事, 成人マイコバクテリア感染で抗 IFN- γ 抗体が病態に関与していることから行った, と回答した. 主査の村上教授より, ①Mutation taster でのみ疾患関連と判定された背景, ②EBV-LCL で他の IFN 誘導蛋白の低下の可能性, ③JAK との相互作用・優性阻害効果のメカニズム, ④非免疫細胞での変異の影響, ⑤CCD ドメインの役割, について質問があった. 申請者は①アミノ酸変異の影響を総合して蛋白としての影響を評価するシステムであるが, 判定の方法は確認できなかった, ②マクロファージでも IP-10 と IL-12p70 では産生量が異なり, 可能性が示唆されるが未検討である, ③STAT1 優性阻害変異では非活性化 STAT1 が変異により安定化するというメカニズムが推測されており, その非活性化変異 STAT1 と JAK の関係性を評価することでメカニズムが解明できる可能性がある, ④DNA 変異は白血球のみで確認し線維芽細胞など非免疫細胞では変異やシグナルの評価を行っていない, ⑤CCD は非活性型で DNA-binding domain と結合する, と回答した.

本論文では STAT1-AD-MSMD の原因として, CCD に世界初の優性阻害型変異を証明した. また, 細胞毎に変異の影響が異なる可能性を示唆した. 今後の STAT1-AD-MSMD 患者の診断に重要な情報が提供されたと考えられる.

審査員一同は, これらの成果を高く評価し, 大学院課程における研鑽や単位取得などと併せ申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した.