

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月10日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390205

研究課題名（和文） STAT3の分子異常により発症するヒト骨粗鬆症の原因解明

研究課題名（英文） Elucidation of a molecular mechanism of osteoporosis caused by a mutation in the *STAT3* gene

研究代表者

峯岸 克行 (MINEGISHI YOSHIYUKI)

徳島大学・疾患プロテオゲノム研究センター・教授

研究者番号：10343154

研究成果の概要（和文）：

高IgE症候群は、黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎にアトピー性皮膚炎・血清IgEの高値を合併する免疫不全症である。骨異常を特徴とする高IgE症候群の主要な原因がSTAT3のドミナントネガティブ(DN)変異であることが明らかになったが、その病態形成機構には不明な点が多い。この骨異常の発症機構を検討する目的で、STAT3-DNを全身に発現する高IgE症候群のモデルマウスを作製した。このマウスの検討により骨芽細胞の機能低下による骨の機械的強度の低下と骨芽細胞の異常による破骨細胞の分化障害があることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

Hyper-IgE syndrome is a primary immunodeficiency characterized by recurrent staphylococcal infections and atopic dermatitis associated with elevated serum IgE levels. We recently identified dominant negative (DN) mutations in the *STAT3* gene is the most common cause of hyper-IgE syndrome associated with bone abnormalities. Here we established Stat3-DN knock-in mice and found bone formation and osteoclast generation induced by osteoblasts were impaired in the Stat3-DN mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2012年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：免疫不全症・骨粗鬆症・STAT3

1. 研究開始当初の背景

原発性免疫不全症の1つである高IgE症候群は、慢性のアトピー性皮膚炎、高IgE血症、黄色ブドウ球菌に対する肺と皮膚の易感染性を3主徴とする疾患である。免疫系以外の

症状を合併する1型のは、特徴的な顔貌と全身の骨、歯牙の異常を呈し、症状が免疫系に限局する2型のは、重症の単純ヘルペスウイルスなどのウイルス感染症に反復罹患する。高IgE症候群は、第1例が1966

年に報告され、骨粗鬆症などの興味深い病態を呈することから多くの検討が行なわれたが、その病態形成機構は長らく明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

原発性免疫不全症は免疫系遺伝子の先天性異常により発症する疾患で、ヒトの免疫系に発現する遺伝子の生体内機能や、遺伝子異常により発症する病態の形成機構解明に大きな貢献をしてきた。高IgE症候群は黄色ブドウ球菌による皮膚・肺の感染症、アトピー性皮膚炎、血清IgEの高値を呈するが、その多くで独特の骨異常（骨粗鬆症、病的骨折、脊椎側弯、乳歯の脱落遅延など）を合併する。今回我々がその原因遺伝子を世界に先駆けて発見した高IgE症候群において、STAT3分子の突然変異がどのような機序でこれらの骨異常を発症するかを解明し、STAT3異常による骨粗鬆症が一般の骨粗鬆症と関連がないかを検討し、その新たな治療標的を発見することを研究目的とする。

3. 研究の方法

STAT3の異常はLIFのシグナル伝達を阻害してES細胞の生存と増殖に悪影響を及ぼす可能性があるため、野生型STAT3のcDNAとネオマイシン耐性遺伝子をloxP配列ではさみ、その下流にヒトで発見されたΔV463の変異を導入したexon 16を配置することにより、コンディショナルにSTAT3変異体の発現ができるようにコンストラクトを設計した。キメラマウスのgermline transmissionを確認し、このマウスと卵細胞特異的にCreを発現するZP3-Creマウスの雌を交配し、全身にSTAT3-DNを発現するモデルマウスを作製した。このマウスにおいては、ヒトの高IgE血症と同様に、高IgE血症、Th17サイトカインの産生障害などが見られることが予備的解

析により明らかになっている。このマウスを用いて、その骨病変の詳細な検討を行った。

4. 研究成果

(1) 高IgE症候群モデルマウスにおける骨芽細胞機能の低下

カルセインを96時間間隔で2回投与し、骨の新生能を生体内で検討するとSTAT3-DNマウスにおいては骨芽細胞の骨新生能が低下していた。試験管内においても頭蓋冠由来骨芽細胞の分化能は低下していた。さらにこのマウスの大腿骨の機械的強度を検討するとSTAT3-DNマウスにおいては、野生型マウスと比較して弱い外力で骨折することが明らかとなった。

(2) 高IgE症候群モデルマウスにおける破骨細胞分化障害

STAT3-DNマウスの破骨細胞数は野生型マウスと比較して顕著に減少していた。しかし破骨細胞の試験管内分化を検討すると、STAT3-DNマウスの骨髄細胞はRANKLとM-CSFの添加により正常に破骨細胞分化した。そこで、ビタミンD3とプロスタグランジンE2(PGE2)で刺激した骨芽細胞上での破骨細胞分化を検討すると、STAT3-DN由来の骨髄細胞は正常に破骨細胞に分化するが、STAT3-DN由来の骨芽細胞は正常骨髄細胞の破骨細胞分化を誘導できなかった。さらに、STAT3-DNマウス骨芽細胞ではビタミンD3とPGE2刺激後のRANKLの発現が低下していた。

(3) 骨芽細胞のRANKL発現が低下しているメカニズムの解明

これまでの報告ではビタミンD3や副甲状腺ホルモン(PTH)、PGE2などの生理的骨吸収のシグナル伝達にはSTAT3は関与しないと考えられていた。しかし今回我々は、これらの生

理的骨吸収を誘導する分子は急速に IL-6 ファミリーサイトカインの発現を誘導し、この発現が RANKL の持続的発現と破骨細胞分化に必要であることが明らかにした。さらに、STAT3 は RANKL のプロモーター領域に直接結合してその転写を誘導することを明らかにした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 30 件)
英語論文はすべて査読あり

1. Egawa M, Mukai K, Yoshikawa S, Iki M, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Inflammatory monocytes recruited to allergen-exposed skin acquire an anti-inflammatory property via basophil-derived IL-4. *Immunity* 38, 570-580, 2013, doi: 10.1016/j.immuni.2012.11.014.

2. 峯岸克行 STAT3 の異常によるアトピー性皮膚炎の発症機序 臨床・免疫アレルギー科 59, 419-423, 2013 査読無し

3. 峯岸克行 STAT3 の異常によるアトピー性皮膚炎の発症機序 臨床・免疫アレルギー科 59, 160-164, 2013 査読無し

4. 峯岸克行 高 IgE 症候群の最近の話題 *Medical Science Digest* 39, 7-8, 2013 査読無し

5. 峯岸克行 抗体産生不全症—B 細胞不全症 小児科診療 76 419-423, 2013 査読無し

6. Ma CS, Avery DT, Chan A, Batten M, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Kreins AY, Averbuch D, Engelhard D, Magdorf K, Kilic SS, Minegishi Y, Nonoyama S, French MA, Choo S, Smart JM, Peake J, Wong M, Gray P, Cook MC, Fulcher DA, Casanova JL, Deenick EK, Tangye SG. Functional STAT3 deficiency compromises the generation of human T follicular

helper cells. *Blood* 119, 3997-4008, 2012, doi: 10.1182/blood-2011-11-392985

7. Ogawa H, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Th2-inducing cytokines IL-4 and IL-33 synergistically elicit the expression of transmembrane TNF- α on macrophages through the autocrine action of IL-6. *Biochem Biophys Res Commun*. 420, 114-118, 2012, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.02.124

8. Minegishi Y, Saito M. Cutaneous Manifestations of Hyper IgE Syndrome. *Allergol Int*. 61, 191-196, 2012, doi: 10.2332/allergolint.12-RAI-0423

9. 峯岸克行 高 IgE 症候群 知っておきたい内科症候群 109, 1495-1496, 2012 査読無し

10. 峯岸克行 高 IgM 症候群 知っておきたい内科症候群 109, 1497-1498, 2012 査読無し

11. 峯岸克行 高 IgE 症候群と感染症 化学療法の領域 27, 80-84, 2012 査読無し

12. 峯岸克行 日本医事新報 高 IgE 症候群の原因遺伝子解析の現況と臨床応用の可能性 4610, 57-58, 2012 査読無し

13. 峯岸克行 高 IgE 症候群により発症するアトピー性皮膚炎 臨床・免疫アレルギー科 58, 667-670, 2012 査読無し

14. Saito M, Nagasawa M, Takada H, Hara T, Tsuchiya S, Agematsu K, Yamada M, Kawamura N, Ariga T, Tsuge I, Nonoyama S, Karasuyama H, Minegishi Y. Defective IL-10 signaling in hyper-IgE syndrome results in impaired generation of tolerogenic dendritic cells and induced regulatory T cells. *J Exp Med* 208: 235-249, 2011, doi: 10.1084/jem.20100799

15. Nishikado H, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H., NK cell-depleting anti-asialo GM1 Ab exhibits a lethal 'off-target' effect on basophils in vivo *J Immunol* 186: 5766-5771, 2011, doi: 10.4049/jimmunol.1100370

16. Watarai A, Niiyama S, Morita M, Bando Y, Minegishi Y, Katsuoka K. Hyper IgE syndrome diagnosed in early infancy by gene analysis of STAT3 mutation. *Eur J Dermatol*, 21: 254-255, 2011, doi: 10.1684/ejd.2010
17. Yamagishi H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Obata K, Ugajin T, Sato S, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Basophil-derived mouse mast cell protease 11 induces microvascular leakage and tissue edema in a mast cell-independent manner *Biochem Biophys Res Comm* 415: 709-713, 2011, doi: 10.1016/j.bbrc.2011.10.150
18. Minegishi Y, Saito M. Molecular mechanisms of the immunological abnormalities in hyper IgE syndrome. *Ann N Y Acad Sci*, 1246: 34-40, 2011, doi: 10.1111/j.1749-6632.2011
19. 峯岸克行 原発性免疫不全症の新展開 炎症と免疫 19 (5)、3-4、2011 査読無し
20. 峯岸克行 高 IgE 症候群における易感染性のメカニズム 呼吸器内科 20, 83-86, 2011 査読無し
21. 齋藤雅子 峯岸克行 高 IgE 症候群の病因・病態解析 アレルギー・免疫 18, 72-76, 2011 査読無し
22. Wada T, Ishiwata K, Koseki H, Ishikura T, Ugajin T, Ohnuma N, Obata K, Ishikawa R, Yoshikawa S, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, Yokozeki H, Watanabe N, Karasuyama H. Selective ablation of basophils in mice reveals their nonredundant role in acquired immunity against ticks. *J Clin Invest*. 120:2867-2875. 2010 doi: 10.1172/JCI42680
23. Matsushima Y, Kikkawa Y, Takada T, Matsuoka K, Seki Y, Yoshida H, Minegishi Y, Karasuyama H, Yonekawa H. An atopic dermatitis-like skin disease with hyper-IgE-emia develops in mice carrying a spontaneous recessive point mutation in the Traf3ip2 (Act1/CIKS) gene. *J Immunol*. 185: 2340-2349. 2010, doi: 10.4049/jimmunol.0900694
24. Ishikawa R, Tsujimura Y, Obata K, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. IgG-mediated systemic anaphylaxis to protein antigen can be induced even under conditions of limited amounts of antibody and antigen. *Biochem Biophys Res Commun*. 402:742-746, 2010, doi: 10.1016/j.bbrc.2010.10.098
25. 飯島茂子、渡邊真也、本山景一、後藤昌英、泉 維昌、峯岸克行 特異な皮膚症状を呈し、遺伝子検索にて生後 7 カ月で診断した 1 型高 IgE 症候群の 1 例 日本皮膚科学会雑誌 120, 2203-2211, 2010 査読有
26. 高田英俊、峯岸克行 高 IgE 症候群の最近の進歩 日本臨床免疫学会誌 33, 15-19, 2010 査読有
27. 峯岸克行 STAT3 の遺伝子異常により発症する免疫不全症、細胞工学 特集 Human Immunology の新たな構築 29(3), 230-233, 2010 査読無し
28. 峯岸克行 高 IgE 症候群ではなぜ皮膚と肺にのみ黄色ブドウ球菌感染が生じるのか? 臨床免疫—アレルギー科, 53, 517-520, 2010 査読無し
29. 峯岸克行 サイトカインのシグナル伝達異常と遺伝性疾患 臨床検査, 54, 682-686, 2010 査読無し
30. 峯岸克行 サイトカインのシグナル伝達異常により発症する免疫不全症 医学の歩み, 234, 518-522, 2010 査読無し
- [学会発表] (計 24 件)
1. Minegishi Y "Molecular Pathogenesis of Hyper IgE Syndrome" The 4th international symposium of Immunological Self, Shiran kaikan, Kyoto, Jan 27-28, 2012,
2. Minegishi Y "Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome International symposium "New Horizons in the Immune System", Seiran Kaikan,

Tokushima, Feb 9-10, 2012

3. Minegishi Y "Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome" Spring Conference of the Korean Association of Immunologists, Seoul, Kyoyuk Munhwa Hoekwan, Korea, April 13, 2012

4. Minegishi Y "Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome" Brain Korea 21 Project for Functional Foods and Nutrigenomics, Yonsei university, Seoul, Korea, April 13, 2012

5. Minegishi Y "Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome" Immune System and Primary immunodeficiency, Research Center for Allergy and Immunology, Kanagawa, May 22, 2012

6. Minegishi Y "Hyper-IgE syndrome" 15th biennial meeting of European Society for Immunodeficiency, Firenze Fiera, Florence, Italy, Oct. 3-6, 2012

7. 峯岸克行 高IgE症候群の病因と病態の解明 第11回小児免疫・アレルギー研究会 2012年2月4日 大阪エコルホール (大阪府)

8. 峯岸克行 高IgE症候群の病因・病態解明へ向けての最近の進歩第3回中四国免疫不全症研究会 2012年7月28日 岡山コンベンションセンター (岡山県)

9. 峯岸克行 IgEと免疫異常 高IgE症候群を中心に 第9回小児・皮膚疾患フォーラム 2012年9月19日 岡山アークホテル (岡山県)

10. 峯岸克行 高IgE症候群の病因と病態の解明 広島大学免疫不全症フォーラム 広島大学大会議室 (広島県) 2012年9月25日

11. 峯岸克行 ゲノムとアレルギーの不思議な関係 NPO法人ゲノム徳島 徳島大学 (徳島県) 2012年10月20日

12. Minegishi Y. Molecular Defects in Hyper IgE Syndrome" The First international conference on primary immunodeficiency diseases. 2011 Shangri-La hotel, New Delhi, India

13. Minegishi Y, Molecular pathology of Hyper

IgE Syndrome" Pediatric Academic Society 2011, Denver Convention Center, Denver, USA 2011 4.30-5.3

14. Minegishi Y, Japan's Contribution to PID Research" World Immunology Conference, Jun 1-5, Rockefeller University, New York, USA

15. Minegishi Y, Molecular pathogenesis of Hyper IgE Syndrome The Third EMBO Conference on Host Genetic Control of Infectious Diseases Sep 28-30, 2011, Pasteur Institute, Paris, France

16. 峯岸克行 原発性免疫不全症の病因と病態の解明 理化学研究所ゲノム医科学センター講演シリーズ 理化学研究所横浜研究所 (神奈川県) 2011年4月15日

17. Minegishi Y, Saito M, Karasuyama H. Molecular origins and mechanism of hyper-IgE syndrome." Primary Immunodeficiency in Asia, Kazusa Academia Hall, Chiba, February 4-5, 2010.

18. Minegishi Y, Saito M, Karasuyama H. Hyper-IgE Syndrome and STAT3" European Society for Immunodeficiency, Oct. 6-10, 2010, Istanbul Congress Center, Istanbul, Turkey

19. 峯岸克行, 齋藤雅子, 烏山 一 高IgE症候群における骨と歯牙の異常の発症機序の検討 厚生労働省原発性免疫不全症調査研究班第1回班会議 学士会館 (東京都) 2010年1月29日

20. 峯岸克行, 齋藤雅子, 烏山 一 アトピー性皮膚炎を合併する免疫不全症、高IgE症候群の病因と病態の解明、皮膚科免疫セミナー 特別講演 グランドプリンスホテル新高輪 (東京都) 2010年3月6日

21. 峯岸克行, 齋藤雅子, 烏山 一 ヒトの遺伝子性シグナル遺伝子変異とその病態 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会 シンポジウム 北九州国際会議場 (福岡県) 2010年6月26日

22. 峯岸克行, 齋藤雅子, 烏山 一 第25回九州血液免疫研究会 遺伝子性アトピーを呈する免疫不全症 高IgE症候群の病因と病態の解明 2010年10月23日 ホテル日航福岡 (福岡県)

23. 峯岸克行, 齋藤雅子, 烏山 一 和歌山県立医大 大学院特別講義 アトピー性皮

膚炎を合併する免疫不全症高IgE症候群の病因と病態の解明 2010年10月29日 和歌山県立医大（和歌山県）

24. 峯岸克行、齋藤雅子、烏山 一 第60回 日本アレルギー学会 ワークショップ マウスモデルを利用した高IgE症候群の病態解明 2010年11月25-27日 東京国際フォーラム（東京都）

〔図書〕（計1件）

1. 峯岸克行 西村書店 カラー版内科学 2012 1929 ページ（共著 p1327-p1329）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

峯岸 克行 (MINEGISHI YOSHIYUKI)

徳島大学・疾患プロテオゲノム研究センター・教授

研究者番号：10343154

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 研究分担者

()

研究者番号：