

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293232

研究課題名(和文) STAT3の遺伝子変異により発症するアレルギーの病態形成機構の解明

研究課題名(英文) A molecular mechanism of atopic manifestations of hyper-IgE syndrome

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々が、高IgE症候群の原因がSTAT3遺伝子のドミナントネガティブ変異であることを世界に先駆けて明らかにした。ほぼ全例でアトピー性皮膚炎を発症するがそのメカニズムは明らかにされておらず、対症療法以外の治療は存在しない。そこで、STAT3のドミナントネガティブ変異体を発現する疾患モデルマウスを作成し、各種の皮膚炎モデルを検討し、ハプテン反復投与でモデルマウスにおいて搔破回数の増加、皮膚組織の肥厚の増強、CD4陽性T細胞と好酸球の皮膚炎局所への浸潤、ハプテン特異的血清IgEの上昇、Th2サイトカインの皮膚炎局所での上昇を認め、ヒトのアトピー性皮膚炎の良いモデルとなる可能性が示唆された

研究成果の概要(英文)：We identified that hyper-IgE syndrome is caused by dominant negative mutations of the STAT3 gene. Almost all the patients with hyper-IgE syndrome suffer from atopic dermatitis, but a molecular mechanism of the skin manifestation remain unidentified and no treatment other than palliative treatment is available. To address this issue, we establish a model mouse of hyper-IgE syndrome. We evaluated several skin-inflammation models and found that repetitive oxazolone application to the skin is the most useful model for atopic dermatitis by evaluating itching behavior, thickening of epidermis, recruitment of CD4+T cells and eosinophils, increased oxazolone-specific IgE antibody and Th2 cytokines.

研究分野：小児科学

キーワード：原発性免疫不全症 アトピー性皮膚炎 STAT3

1. 研究開始当初の背景

高 IgE 症候群は、全例でアトピー性皮膚炎・血清 IgE 高値を呈し、高頻度に黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎と、骨粗鬆症や易骨折性などの骨異常を合併する。その原因は世界的にも全く明らかにされていなかったが、我々が、その主な原因が STAT3 遺伝子のドミナントネガティブ変異であることを世界に先駆けて明らかにした (Minegishi *et al.*, *Nature*, 2007)。その後、世界の研究者により高 IgE 症候群の約 70% は STAT3-DN 変異により発症することが確認された (Holland *et al.*, *New Engl J Med* 2007)。

高 IgE 症候群では、ほぼその全例で高 IgE 血症とアトピー性皮膚炎を発症する。しかし、STAT3-DN 変異がどのようなメカニズムでこれらのアトピー症状を発症するかは現時点では世界的にも全く明らかにされておらず (Minegishi *et al.*, *Ann N Y Acad Sci*, 2011)。そのため本症のアトピー症状には、対症療法以外の治療法は存在しなかった。

2. 研究の目的

高 IgE 症候群では全例で高 IgE 血症とアトピー性皮膚炎を発症する。このことはヒト全身細胞における STAT3-DN の発現は、ヒトにアトピー性疾患を発症させることを意味している。アトピー性疾患の病因・病態には現在でも不明な点が多数残されており、本研究では、STAT3-DN 変異がアトピー性疾患を引き起こす分子メカニズムを解明すること、その知見を利用してアトピー性疾患の新規治療法のターゲットを発見することを目的とする。

3. 研究の方法

高 IgE 症候群におけるアトピー性疾患の発症メカニズムを検討するために、STAT3 のドミナントネガティブ変異体を発現するコンディショナルノックインマウスを作成

した。STAT3 の機能低下は ES 細胞の germline transmission に悪影響を及ぼす可能性があるため、野生型 STAT3 の cDNA をネオマイシン耐性遺伝子と共に loxP 配列で挟み、その下流にヒトと全く同一の STAT3-DN 変異を配置し、時間的・空間的に制御された形で STAT3-DN の発現ができるようにした。この Stat3-DN^{fllox} マウスと卵細胞特異的に Cre を発現するマウス (ZP3-Cre マウス) の雌と交配し、全身に Stat3-DN を発現するマウスを作製した。

高 IgE 症候群における高 IgE 血症の原因を検索する目的で、まずその原因細胞の検索を行なった。モデルマウスは、Stat3-DN のコンディショナルノックインマウスであるので、このマウスを各種の細胞特異的 Cre recombinase 発現マウスと交配することで、各種の細胞特異的 Stat3-DN 発現マウスを作製できる。T 細胞特異的に Cre を発現する Lck-Cre マウス、B 細胞特異的に Cre を発現する mb1-Cre マウス、ケラチノサイト特異的に Cre を発現する K5-Cre マウス、骨髄単球系細胞特異的に Cre を発現する LysM-Cre マウスと Stat3-DN^{fllox} マウスを交配した。

4. 研究成果

高 IgE 症候群のアトピー性皮膚炎の病態形成機構の解明を目的として、まず Stat3-DN マウスにおけるアトピー性皮膚炎モデルを確立することを試みた。Stat3-DN を全身に発現するマウスは SPF 環境下では皮膚炎を発症しなかったため、搔破行動の誘発、皮膚組織の肥厚、CD4 陽性 T 細胞と好酸球の皮膚炎局所への浸潤、抗原特異的血清 IgE 濃度の上昇、Th1/Th2 サイトカインの皮膚炎局所での上昇、経皮水分蒸散量により評価した表皮のバリアー機能の低下などを指標にして、各種の皮膚炎モデルの評価した。

ハプテン反復投与モデルの検討を行った (Hershko *et al.*, *Immunity*, 2011)。具体的

には、感作6日後より、ハプテンの耳への塗布を隔日で続けると、最初は Stat3-DN マウスで皮膚の肥厚の軽減が見られたが、day 14 (ハプテンの塗布4回後)より、Stat3-DN マウスにおいて搔破回数の増加、皮膚組織の肥厚の増強、CD4 陽性 T 細胞と好酸球の皮膚炎局所への浸潤、ハプテン特異的血清 IgE の上昇、Th2 サイトカインの皮膚炎局所での上昇、表皮のバリアー機能の低下、Th2 ケモカインの上昇が認められた。すなわち Stat3-DN マウスに対するハプテン反復投与モデルは、ヒトのアトピー性皮膚炎の良いモデルとなる可能性が示唆された。重要なのは、一般にはハプテン反復塗布による皮膚炎は接触性皮膚炎のモデル (allergic contact dermatitis; ACD) と考えられているが、Stat3-DN マウスではその免疫異常のために、ACD とは異なり Th17 応答の減弱、抗菌ペプチドの産生低下、h2 ケモカインの産生亢進、IgE の上昇や好酸球浸潤の増加などアトピー性皮膚炎に非常に類似した病態を呈している点である (Gittler *et al.*, *JACI*, 2012)。この新規アトピー性皮膚炎モデルを利用して、高 IgE 症候群におけるアトピー性皮膚炎の病態解明と新規治療法開発を実施していく。

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 8 件)

(1) Kreins AY, Ciancanelli MJ, Okada S, Kong XF, Ramirez-Alejo N, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Mahdavian SA, Ailal F, Bousfiha A, Mansouri D, Nievas E, Ma CS, Rao G, Bernasconi A, Sun Kuehn H, Niemela J, Stoddard J, Deveau P, Cobat A, El Azbaoui S, Sabri A, Lim CK, Sundin M, Avery DT, Halwani R, Grant AV, Boisson B, Bogunovic D, Itan Y, Moncada-Velez M, Martinez-Barricarte R,

Migaud M, Deswarte C, Alsina L, Kotlarz D, Klein C, Muller-Fleckenstein I, Fleckenstein B, Cormier-Daire V, Rose-John S, Picard C, Hammarstrom L, Puel A, Al-Muhsen S, Abel L, Chaussabel D, Rosenzweig SD, Minegishi Y, Tangye SG, Bustamante J, Casanova JL, Boisson-Dupuis S. Human TYK2 deficiency: Mucobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome. *J Exp Med*. 2015, 212, 1641-1662 doi: 10.1084/jem.20140280. (査読有)

(2) Ma CS, Wong N, Rao G, Avery DT, Torpy J, Hambridge T, Bustamante J, Okada S, Stoddard JL, Deenick EK, Pelham SJ, Payne K, Boisson-Dupuis S, Puel A, Kobayashi M, Arkwright PD, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Minegishi Y, Mahdavian SA, Mansouri D, Bousfiha A, Blincoe AK, French MA, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Smart JM, Fulcher DA, Cook MC, Phan TG, Stepensky P, Boztug K, Kansu A, İkinçioğullari A, Baumann U, Beier R, Roscioli T, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Tangye SG. Monogenic mutations differentially affect the quality of T follicular helper cells in patients with human primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 136, 993-1006 doi: 10.1016/j.jaci.2015.05.036. (査読有)

(3) 峯岸克行 原発性免疫不全症の原因遺伝子探索の新展開 医学のあゆみ 第1土曜特集 ヒト免疫学の新機軸 252, 5-9, 2015 (査読無)

(4) 峯岸克行 高 IgE 症候群 臨床免疫アレルギー科 63, 251-253, 2015 (査読無)

(5) 峯岸克行 小児内科 「小児疾患診療のための病態生理 2 改訂 5 版」 高 IgE 症候群 4 7 巻増刊号 697-701 2015 (査読無)

(6) 峯岸克行 AD-HIES (Job ' s 症候群) 日本臨床 免疫症候群 III 34 235-237 2015 (査読無)

(7) 峯岸克行 Comel-Netherton 症候群 日本臨床 免疫症候群 III 34 238-239 2015 (査読無)

(8) 峯岸克行 PGM3 欠損症 日本臨床 免疫症候群 III 34 240-241 2015 (査読無)

〔学会発表〕(計 3 件)

(1) Minegishi Y, "Molecular mechanisms and therapeutic approaches of hyper-IgE syndrome" The 4th Bizan Immunology symposium Jan 29-30 2015 Tokushima University Fujii Memorial Hall (徳島市・徳島県)

(2) Nishikawa Y, Minegishi Y "Dysregulation of IgE homeostasis in hyper-IgE syndrome." The third Bizan Immunology symposium Jan 29-30, 2015 Tokushima University Fujii Memorial Hall (徳島市・徳島県)

(3) Minegishi S, Urabe K, Inoue F, Minegishi Y, "Specific DSB induction to STAT3 mutations by CRISPR/Cas9" Keystone symposium "Precision Genome Engineering and Synthetic Biology, Jan 11-16, 2015, Big Sky MN, USA

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