

氏名	汪 曉珮
論文題目(欧文の場合、和訳を付すこと)	
Amplification of IL-21 signaling pathway through Bruton's tyrosine kinase in human B cell activation (ヒト B 細胞活性化におけるブルトン型チロシンキナーゼ (Btk)を介した IL-21 シグナルの増幅メカニズム)	
論文要旨	
<p>目的： B 細胞は、関節リウマチ (RA)などの自己免疫疾患の病態で重要な役割を演じる。非受容体型チロシンキナーゼであるブルトン型チロシンキナーゼ (Btk)は、B 細胞の分化と活性化を制御するが、サイトカインで誘導されるヒト B 細胞の分化とクラススイッチ組換えに対する Btk の役割は不明である。本研究ではヒト活性化 B 細胞における Btk の役割、および RA の病態との関連を検討した。</p> <p>方法： 健康人末梢血より B 細胞を分離・精製し、B 細胞受容体 (BCR)とその他の刺激を加え、Btk 阻害剤の有無により遺伝子の発現を比較評価した。Btk を介するシグナル経路の評価には B 細胞株 BJAB を用いた。さらに、健康人および関節リウマチ (RA)患者の末梢血 B 細胞でのリン酸化 Btk (p-Btk)をフローサイトメーターで測定し、患者背景との相関を検討した。</p> <p>結果： ヒト B 細胞に対する IL-21 シグナル、BCR 架橋および CD40L/BAFF シグナルの 3 者の共存刺激は、AICDA、BCL-6、XBP-1 などのヒト B 細胞の分化/クラススイッチ DNA 組換えに関連する遺伝子群の発現と IgG の産生を最も強力に誘導した。一方、BCR 架橋および sCD40L、または IL-21 の各単独刺激では、わずかに誘導されるのみであった。さらに、3 者刺激で誘導されるこれらすべての遺伝子・蛋白発現は、Btk の選択的阻害剤 (ONO-A)により、濃度依存性に有意に抑制された。また、IL-21、BCR 架橋および CD40L の共刺激は、STAT1 と STAT3 のリン酸化を誘導したが、ONO-A の添加による Btk の阻害は核内における STAT1 のリン酸化を選択的に阻害した。さらに、B 細胞株 BJAB を用いて Btk を knock down すると、細胞質では STAT1、STAT3 のリン酸化が認められたが、核内での STAT1 のリン酸化が認められなかった。RA 患者末梢血 B 細胞では、健康人に比して Btk のリン酸化が有意に亢進しており、リウマトイド因子 (RF)陽性患者において Btk のリン酸化レベルが RF 価と有意に正相関した。</p> <p>考察： 本研究の結果より、ヒト B 細胞における Btk は BCR を介するシグナルの調節のみならず、IL-21 で誘導される核内での STAT1 のリン酸化を誘導することでサイトカインシグナル経路とのクロストークを媒介しながら B 細胞の分化・成熟を制御することが明らかとなった。さらに、RA 患者末梢血 B 細胞では Btk の活性化が自己抗体の産生と相関して検出されることが示された。これまで、Btk を過剰発現させたマウスでは、胚中心の形成、自己抗体産生、形質細胞の増加が認められ自己免疫疾患の症状を呈すること、逆に、自己免疫疾患のモデルマウスでは、Btk の欠損や阻害が病態の顕著な改善をもたらすことが報告されている。我々の結果は、ヒト B 細胞の活性化における Btk を介した IL-21 シグナルの増幅機構の重要性を示唆するとともに、代表的な自己免疫疾患である RA において Btk が病的に関与し、有力な治療標的分子となりうる可能性を示唆している。</p> <p>結論： Btk は BCR を介するシグナル、及び、IL-21 で誘導される核内 STAT1 のリン酸化を誘導して B 細胞を活性化し、RA 等の自己免疫疾患の病態形成に関与することが示唆された。</p>	

学位論文審査結果要旨

氏 名	Sheau-Pey Wang (汪 曉珮)			
論文審査委員	主査 所属	障害機構系	災害医学部門	原田 大
	副査 所属	障害機構系	病態機構部門	谷口 初美
		生体情報系	病態情報部門	西澤 茂
		系	部門	
		系	部門	
論文題目				
Amplification of IL-21 signaling pathway through Bruton's tyrosine kinase in human B cell activation				
ヒト B 細胞活性化におけるブルトン型チロシンキナーゼ(Btk)を介した IL-21 シグナルの増幅メカニズム				
学位論文審査結果要旨				
<p>【目的】 B 細胞は免疫において重要な細胞であるが、様々な自己免疫疾患の病態においてその異常が関与している。Bruton's tyrosine kinase (Btk)は、B 細胞において B cell receptor(BCR)を介した細胞シグナルの中の重要な蛋白である。この遺伝子の変異により X 連鎖無ガンマグロブリン血症(ブルトン病)が起こり、このトランスジェニックマウスでは免疫異常を引き起こす。しかし、Btk の B 細胞から形質細胞への分化における役割や人の自己免疫性疾患における役割は明らかではない。【対象と方法】 健常者と関節リウマチ(RA)患者より採取した B 細胞と Burkitt リンパ腫由来の培養細胞株である BJAB 細胞を使用した。これらの細胞を抗 BCR 抗体や様々なサイトカインで刺激して、細胞の反応を定量的 RT-PCR、ウエスタンブロットならびに flow cytometry にて解析した。またリウマチ因子陽性の RA 患者においてはリン酸化 Btk の発現と相関する臨床的因子を検討した。【結果】 健常人由来の B 細胞において抗 BCR 抗体による BCR の刺激と B cell activation factor belonging to the TNF family (BAFF)、IL-21 の共刺激にて B 細胞の分化や抗体産生に関与する遺伝子の発現が亢進した。またこれらの発現亢進は Btk 阻害剤(ONO-A)にて抑制された。IL-21、BCR 刺激と CD40 により STAT1 と STAT3 のリン酸化が起こったが、Btk 阻害剤により核でのリン酸化 STAT1 の発現が減少した。BJAB 細胞において IL-21 単独でも STAT1 と 3 はリン酸化されたが、Btk の shRNA による knock down にて核のリン酸化 STAT1 の減少がみられた。RA 患者由来の B 細胞において Btk のリン酸化が健常人由来のものに比して亢進していた。さらに Btk のリン酸化と関連する因子を検討するとリウマチ因子の力価がリン酸化 Btk の高発現と関連していた。【結論】 Btk は、BCR シグナルに関与しているが、IL-21 を介した STAT1 の活性化を介した B 細胞の分化にも関与していると考えられた。また Btk は RA の病態にも関与していると推測された。これらのことから Btk が B 細胞の分化に重要であり、その活性化の調節がある種の自己免疫性疾患の治療に有用である可能性が示された。以上の重要な所見より本学の学位論文として適格であると判断した。</p>				
平成 27 年 2 月 6 日				