

甲 第 号

藤村貴則 学位請求論文

審 查 要 旨

奈 良 県 立 医 科 大 学

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲	第	号	氏名	藤村貴則
論文審査担当者		委員長		教授	木村 弘
		委員		教授	桐田忠昭
		委員		教授	高澤 伸
		(指導教員)			

主論文

Interleukin-6/STAT pathway is responsible for the induction of REG I α , a new auto-antigen in Sjögren's syndrome patients, in salivary duct epithelial cells

シェーグレン症候群の新規自己抗原である REG 蛋白の唾液導管細胞における発現誘導には IL-6/STAT 経路が重要である

Takanori Fujimura, Takashi Fujimoto, Asako Itaya-Hironaka, Tomoko Miyaoka, Kiyomi Yoshimoto, Akiyo Yamauchi, Sumiyo Sakuramoto-Tsuchida, Saori Kondo, Maiko Takeda, Hiroki Tsujinaka, Masayuki Azuma, Yasuhito Tanaka and Shin Takasawa

Biochemistry and Biophysics Reports Volume 2, July 2015, Pages 69–74

論文審査の要旨

シェーグレン症候群は唾液腺・涙腺の慢性炎症を特徴とする自己免疫疾患で、炎症性サイトカインの過剰産生が病態に関与している。本研究の key molecules である *Reg* 遺伝子は、ラットの再生膵島細胞から見出された再生・増殖関連遺伝子であり、ヒトのホモログが *REG Ia* 遺伝子である。これまで申請者らの研究グループでは、(1) *REG Ia* mRNA とその産物である *REG Ia* 蛋白がシェーグレン症候群患者の小唾液腺の導管細胞において過剰発現していること、(2) シェーグレン症候群患者の血清から *REG Ia* 蛋白に対する自己抗体が検出され、抗体検出例では唾液腺分泌量が有意に低下していること、を明らかにした。しかしその機序に関しては未解明であった。本研究では、唾液腺導管細胞における *REG Ia* 遺伝子の発現制御機構を解明することを目的とした。

唾液腺導管由来細胞である NS-SV-DC 細胞(ヒト)と A5 細胞(ラット)を用いた。*REG Ia* 遺伝子のプロモーター領域を pGL3-Basic ベクターのルシフェラーゼ遺伝子の上流に挿入し作成したプラスミドを、これらの細胞にリポフェクションで導入し、IL-6 および IL-8 で刺激した。その後ルシフェラーゼアッセイで *REG Ia* 遺伝子の転写活性を測定し、また real-time RT-PCR 法にて *REG Ia* mRNA を測定した。

NS-SV-DC 細胞および A5 細胞で、IL-6 刺激は有意に *REG Ia* の転写活性を上昇させ、*REG Ia* の mRNA も上昇させた。一方 IL-8 による刺激では *REG Ia* の転写活性は上昇しなかった。*REG Ia* のプロモーター領域を段階的に短縮したプラスミドを作製し、ルシフェラーゼアッセイを行うと *REG Ia* 遺伝子の-141 から-117 の領域が IL-6 による転写活性化に必要であることが示された。この領域には STAT 結合配列が存在したため、STAT3 に対する siRNA を NS-SV-DC 細胞に導入したところ、IL-6 刺激による *REG Ia* mRNA の上昇が見られなくなった。これより、シェーグレン症候群の病態形成では唾液腺導管細胞での IL-6/STAT 依存性の *REG Ia* 発現が重要な役割をもつことが明らかとなった。

本研究は、シェーグレン症候群の病態形成における IL-6/STAT 依存性の *REG Ia* 遺伝子の関与について重要な情報を提供している。基礎・臨床の双方の観点から意義深い研究と評価しえた。

参 考 論 文

1. Subclinical articular involvement in primary Sjögren's syndrome assessed by ultrasonography and its negative association with anti-centromere antibody
Takanori Fujimura, Takashi Fujimoto, Ryota Hara, Naoki Shimmyo, Yasunori Kobata, Akira Kido, Yasuhiro Akai and Yasuhito Tanaka
Modern Rheumatology 2015 (in press)
2. Human retinal pigment epithelial cell proliferation by the combined stimulation of hydroquinone and advanced glycation end-products via up-regulation of *VEGF* gene
Hiroki Tsujinaka, Asako Itaya-Hironaka, Akiyo Yamauchi, Sumiyo Sakuramoto-Tsuchida, Hiroyo Ota, Maiko Takeda, Takanori Fujimura, Shin Takasawa and Nahoko Ogata
Biochemistry and Biophysics Reports 2:123-131, 2015
3. Synergistic activations of *REG I α* and *REG I β* promoters by IL-6 and glucocorticoids through JAK/STAT pathway in human pancreatic β cells
Akiyo Yamauchi, Asako Itaya-Hironaka, Sumiyo Sakuramoto-Tsuchida, Maiko Takeda, Kiyomi Yoshimoto, Tomoko Miyaoka, Takanori Fujimura, Hiroki Tsujinaka, Chikatsugu Tsuchida, Hiroyo Ota and Shin Takasawa
Journal of Diabetes Research 2015:173058, 2015
4. Pancreatic β cell proliferation by intermittent hypoxia via up-regulation of *Reg* family genes and *HGF* gene
Hiroyo Ota, Asako Itaya-Hironaka, Akiyo Yamauchi, Sumiyo Sakuramoto-Tsuchida, Tomoko Miyaoka, Takanori Fujimura, Hiroki Tsujinaka, Kiyomi Yoshimoto, Kan-ichi Nakagawara, Shinji Tamaki, Shin Takasawa and Hiroshi Kimura.
Life Sci. 93: 664-672, 2013
5. New aspects of mechanism of salivary gland dysfunction in Sjögren's syndrome
Takashi Fujimoto, Kiyomi Yoshimoto, Takanori Fujimura, Maiko Takeda, Asako Itaya-Hironaka, and Shin Takasawa.
In E. M. Hernandez (ed.),
Sjögren's Syndrome: Symptoms, Treatment Options and Potential Health Complications, pp.125-158, 2014
Nova Scientific Publishers, Inc., New York.

6. Regulators of beta cell death and regeneration

Shin Takasawa, Asako Itaya-Hironaka, Akiyo Yamauchi, Hiroyo Ota, Maiko Takeda, Sumiyo Sakuramoto-Tsuchida, Takanori Fujimura and Hiroki Tsujinaka .

In A. A. Hardikar (ed.),

Pancreatic Islet Biology,

Springer, Berlin, in press (2015).

以上、主論文に報告された研究成績は、参考論文とともにシェーグレン症候群の基礎研究の進歩に寄与するところが大きいと認める。

平成 27 年 11 月 10 日

学位審査委員長

呼吸器・血液病態制御医学

教 授 木村 弘

学位審査委員

口腔・顎顔面機能制御医学

教 授 桐田忠昭

学位審査委員（指導教員）

分子医化学

教 授 高澤 伸