

Title	Stat3 is required for cytoprotection of the respiratory epithelium during Adenoviral infection
Sub Title	アデノウイルス感染時の肺上皮細胞でのアポトーシス抑制におけるStat3の重要性
Author	松崎, 陽平
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.4 (2007. 12) ,p.16-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071202-0016">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071202-0016</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Stat3 Is Required for Cytoprotection of the Respiratory Epithelium during Adenoviral Infection

(アデノウイルス感染時の肺上皮細胞でのアポトーシス抑制におけるStat3の重要性)

松崎 陽平

## 内容の要旨

ウイルス感染による急性細胞傷害から肺上皮細胞を守るメカニズムの解明は、重症肺炎の病態解明と治療法開発に重要である。近年、転写因子Signal transducers and activators of transcription (Stat)-3遺伝子の組織特異的な発現抑制により、Stat3が様々な細胞、臓器において、細胞遊走、生存、増殖、アポトーシス、炎症などの過程に重要な役割を果たしていることがわかってきた。本研究では、気管支上皮と肺上皮細胞に特異的にStat3をノックアウトしたマウス（以下Stat3<sup>ΔΔ</sup>マウス）を用い、アデノウイルス感染による肺上皮細胞障害に対する防御機構におけるStat3の役割を*in vivo*で検討した。

Stat3<sup>ΔΔ</sup>マウスでは、肺の組織構造や機能には異常を認めなかったが、自己複製能のないアデノウイルスAV1-GFPの経気管投与による感染において、投与後1日目から肺胞腔の拡大、肺胞隔壁の喪失、気管支上皮の剥落など、対照群に比べて強い肺傷害を認めた。サーファクタントについては、蛋白質発現量、mRNA発現量ともにStat3<sup>ΔΔ</sup>マウス群と対照群で差を認めなかった。一方、TUNEL法と活性化型caspase-3の免疫染色により、AV1-GFP投与後のStat3<sup>ΔΔ</sup>マウスの肺上皮でアポトーシスが亢進していることが確認された。すなわち、Stat3<sup>ΔΔ</sup>マウスにおいてアデノウイルス感染後に認められた肺の組織変化は、サーファクタント蛋白の異常によるものではなく、アポトーシスが原因と考えられ、Stat3がアポトーシス抑制に深く関わっている可能性を示唆するものであった。

次に、肺胞Ⅱ型上皮細胞を単離後、RNAを抽出し、RNAマイクロアレイ解析を行った。Stat3<sup>ΔΔ</sup>マウス群では、Bcl-xLが低下し、caspase-3が増加するなど、アポトーシスの調節に関与するいくつかの遺伝子のmRNA発現の変化を認めた。特に、Bcl-xL蛋白はアポトーシス抑制に働くこと、Stat3により発現調節を受けていることから、本実験系におけるアデノウイルス感染による肺傷害において重要な役割を果たしていると考えた。そこで、アデノウイルスAV1-GFPベクターにBcl-xL遺伝子を導入したAV1-Bcl-xLウイルスをStat3<sup>ΔΔ</sup>マウスに経気管投与したところ、組織変化やアポトーシスなどの病理変化がほとんど認められなかった。すなわち、Bcl-xLはStat3<sup>ΔΔ</sup>マウスにおけるアデノウイルス感染時の肺傷害を大きく軽減した。

以上、Stat3は、アデノウイルス感染時にBcl-xLなどアポトーシス関連遺伝子の発現増加を促し、肺胞Ⅱ型上皮細胞のアポトーシス抑制することにより組織損傷の防御機構において大きな役割を果たしていると考えられる。

## 論文審査の要旨

Stat3はIL-6刺激の際に、受容体のサブユニットであるgp130を経てJAK-1により活性化され、核内へ移行して標的遺伝子を直接調節する転写因子である。本研究では、Stat3の肺上皮での特異的コンディショナルノックアウトマウス (Stat3<sup>ΔΔ</sup> マウス) にアデノウイルス (増殖欠損型ベクター) を感染させると、対照マウスに比して強い肺損傷を認めること、Stat3<sup>ΔΔ</sup> マウスの肺上皮ではTUNEL染色陽性細胞と活性化型caspase-3陽性細胞が増加していること、単離した肺胞Ⅱ型上皮細胞とアデノウイルスを共培養した場合でも活性化型caspase-3の発現が増加することを示した。すなわち、アデノウイルス感染時の肺損傷におけるStat3とアポトーシス抑制の関連が示唆された。さらに、Bcl-xL 遺伝子を導入したアデノウイルスベクターを用いた場合、アポトーシスが減少し、肺損傷は著明に軽減した。以上、アデノウイルス感染時には、Stat3がアポトーシス関連遺伝子の発現を介して肺胞Ⅱ型上皮細胞のアポトーシスを抑制し、肺の組織損傷に対する防御機構として機能していることを示した。

審査ではコンディショナルノックアウトの効率について質問され、以前の研究成果をふまえて、70-80%のノックアウト効率と回答された。ウイルス溶解液の投与量を80μlにした根拠について質問され、肺組織全体にほぼ均一に撒布投与でき、かつ死亡することの稀な投与量である、と説明された。肺の固定法について質問され、25cmH<sub>2</sub>Oでパラフォルムアルデヒドにより低圧伸展固定した、と回答された。Bcl-2についての検討を行わなかった理由について質問され、Bcl-2は抗アポトーシスとアポトーシス誘導の作用を共に有するため、トランスフェクションによる細胞内濃度を正確に制御できない現状では、抗アポトーシス作用を検証するのに不適当と考えたため、と回答された。本研究と臨床医学との関連について質問され、現時点でStat3の変異を伴う疾患は発見されていないが、抗癌剤として臨床応用の段階にあるStat3インヒビターの副作用として、本研究で示されたような肺病変をきたす可能性があり、本研究が副作用の回避方法を考えるうえで参考になるのではないかと回答された。肺損傷では修復に伴う線維化病変を認めるはずであり、本研究の病変はむしろ気腫化と呼ぶべき病態ではないかと、との指摘に対して、本実験は感染後48時間という早期におけるアポトーシスに関わるもので、長期間の観察を行えば線維化病変を認める可能性がある、と回答された。IL-11などを含めたStat3活性化の詳細な機序解明、ウイルスの複数回投与により免疫系を賦活化した場合の組織損傷に関する検討など、本研究の発展性につき助言がなされた。

以上、本研究はさらに検討すべき課題を残すものの、ウイルス感染による組織損傷に対してStat3が防御機構として関与していること、その機序の一部が肺上皮のアポトーシス抑制によるものであることを明らかにした点で、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 小児科学 高橋 孝雄  
内科学 石坂 彰敏 外科学 小林 紘一  
微生物学・免疫学 小安 重夫  
学力確認担当者：池田 康夫  
審査委員長：石坂 彰敏

試問日：平成19年6月26日