

京都大学	博士（医学）	氏 名	井口 美季子
論文題目	Overexpression of a minimal domain of calpastatin suppresses IL-6 production and Th17 development via reduced NF-κB and increased STAT5 signals (カルパスタチン最小機能ドメインの過剰発現はNF-κB シグナルの抑制と STAT5 シグナルの増強を介して IL-6 の産生と Th17 細胞への分化を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
カルパイン（カルシウム依存性システインプロテアーゼ）は関節リウマチ（RA）のような自己免疫性疾患の病因に関与していると報告されている。また、カルパスタチン（内因性特異的カルパイン阻害蛋白）に対する自己抗体が多く RA 患者において認められる。E-64-d（カルパイン特異的ではない、膜透過性システインプロテアーゼ阻害剤）は実験的関節炎の治療に有効であるとされるが、炎症細胞におけるカルパスタチンーカルパイン系の直接的な役割は未だ明らかでない。そこでカルパスタチンの最小機能ドメインを過剰発現させることにより、プライマリーヘルパーT 細胞、線維芽細胞の細胞株、RA 患者の滑膜線維芽細胞におけるカルパイン特異的阻害の効果を解析した。 カルパスタチン・カルパインの発現は Th1、Th2、Th17 細胞の分化過程において異なっていた。またレトロウイルスを用いた遺伝子導入によるカルパスタチン最小機能ドメインの過剰発現や E-64-d はヘルパーT 細胞における IL-6 と IL-17 の産生や線維芽細胞における IL-6 の産生を抑制した。これらのサイトカイン産生抑制効果は ROR γ T の発現や STAT3 のリン酸化の低下と関連していた。更にカルパイン小サブユニットに対する RNAi を用いたカルパイン阻害は、Th17 分化を抑制した。 カルパスタチン最小機能ドメインの過剰発現は、線維芽細胞において IκBα を安定化させることにより NF-κB のシグナルを抑制し、カルパイン小サブユニットに対する RNAi を用いたカルパイン阻害はヘルパーT 細胞において STAT5 シグナルを増強させた。これらの機序を介してカルパイン阻害は線維芽細胞における IL-6 産生、ヘルパーT 細胞における IL-17 産生を抑制していると考えられた。さらにカルパスタチン最小機能ドメインの過剰発現は RA 患者由来滑膜線維芽細胞からの IL-6 産生を抑制することも発見した。 これらの知見はカルパスタチン最小機能ドメインの過剰発現によるカルパイン阻害はヘルパーT 細胞のみならず滑膜線維芽細胞からの炎症活性も協調して抑制していることを示唆する。よってカルパスタチン最小機能ドメインは RA のような炎症性疾患の治療の有効な手段となり得る可能性があると考えられた。			

（論文内容の要旨）
カルパイン（カルシウム依存性システインプロテアーゼ）・カルパスタチン（内因性カルパイン阻害蛋白）は関節リウマチ（RA）など炎症性疾患の病態への関与が報告されているが、炎症細胞におけるカルパスタチンーカルパイン系の役割は明らかでない。本研究では T 細胞や線維芽細胞におけるカルパイン特異的阻害の効果を解析した。
カルパスタチン・カルパインの発現は Th1、Th2、Th17 細胞の分化過程において異なっていた。カルパスタチンの過剰発現は T 細胞や線維芽細胞において IL-6 や IL-17 の産生を抑制し、ROR γ t 発現と STAT3 リン酸化を低下させた。RNAi を用いたカルパイン阻害は Th17 分化を抑制した。さらに RA 患者由来滑膜細胞にカルパスタチンを過剰発現させると IL-6 産生が抑制された。カルパイン阻害による IL-6 や IL-17 産生抑制の機序として、IκBα の安定化による NF-κB シグナルの抑制と STAT5 シグナル増強の関与が考えられた。
これらの知見はカルパイン阻害がヘルパーT 細胞の分化とともに滑膜線維芽細胞の炎症活性も協調して抑制することを示しており、カルパイン阻害が RA の有効な治療の手段となり得る可能性が示唆された。
以上の研究はカルパスタチンによるカルパイン阻害の T 細胞・線維芽細胞におけるサイトカイン産生能に与える影響とその機序の解明に貢献し、今後の RA 治療における発展に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 2 4 年 1 月 1 8 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降