Osaka University Knowledge Archive

Title	慢性関節リウマチ患者末梢血血清中に認められた細胞傷害性因子
Author(s)	島岡, 康則
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3060204
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【67】

氏　　名	島　岡　康　則（しま　おか　やす　のり）
博士の専攻分野の名称	博　士　（医学）
学位記番号	第　10205　号
学位授与年月日	平成4年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科　外科系専攻
学位論文名	**慢性関節リウマチ患者末梢血血清中に認められた細胞傷害性因子**
論文審査委員	(主査) 教　授　小野　啓郎 (副査) 教　授　越智　隆弘　　教　授　岡本　光弘

論文内容の要旨

（目　　的）

慢性間接リウマチ（RA）では，関節局所の進行性破壊により高度の機能障害に陥ることが注目され，局所の組織破壊に関しては多くの研究がなされてきた。しかし，貧血や骨粗鬆症を始めとするRA全身性組織傷害については，その原因物質もメカニズムも全く不明である。我々は，これを解明するために，強い全身性組織傷害を伴う重症RA患者の末梢血血清を健常者の血清と比較し，以下の研究を行った。その結果，RA患者の全身性傷害の大きな原因物質として細胞傷害性因子と，これのインヒビターとを見いだした。この2つの因子の相互関係が全身性組織傷害の大きな要因となっていると考えられたので報告する。

（方法ならびに成績）

1）細胞傷害性因子：

① RA血清の自己末梢血単核球（PBMC）に対する効果

健常者（4例）及びRA患者（7例）のPBMCをPHA（0.25%）で刺激しこれに50%自己血清を加え，DNA合成に対する効果をみた。DNA合成は，健常者血清では上昇した。RA血清では7例中4例で上昇を認めたが，3例に明らかな減少を認め，この患者の血清中に何らかの血清中に何らかの傷害性因子が含まれると考えられた。

② RA血清からの細胞傷害性因子の粗精製

上記3例のRA血清をサイズ排除クロマトグラフィーにて40分画し，各分画のDNA合成に対する効果を調べた。RA血清は，3例いずれも中心分子量900 kdの分画に強いDNA合成抑制作用を

持った。この分画は，in vivo と同濃度で，mitomycin C 処理した健常者 PBMC を破壊し，その細胞数を著名に減少させた。これよりこの分画には DNA 合成抑制というよりはむしろ細胞傷害性の物質が含まれると結論された。

③ 非特異的細胞傷害

この分画の種々のヒト細胞株に対する傷害性を，トリパンブルー染色による細胞生存率，及び tetrazolium bromide（NTT）を用いて生存細胞の mitocondorial dehydlogenase 活性を定量する方法で調べた。生存細胞数は，Raji 細胞，CCRF－CEM 細胞，HL－60細胞，及び，U－937細胞で，それぞれ，24.5 ± 8.4，11.1 ± 10.1，84.3 ± 7.2，46.1 ± 6.4%にいずれも減少した。MTT を用いた方法での細胞傷害性は，それぞれ，77.6 ± 3.6，94.6 ± 0.7，10.4 ± 1.6，40.6 ± 6.1%であった。細胞株により感受性に差は認めるが，非特異的な細胞傷害が引き起こさることが解った。

④ 既知の物質との異同

TNF－α を用いて同様の実験を行ったが，TNF－α は健常者 PBMC び上記ヒト細胞株に対して傷害性を示さず，この物質とは異なると考えられた。この物質は熱耐性で，56℃，30分処理でも失活せず，補体系の物質とも異なった。この物資の分解酵素活性を知るために，protease 活性，collagenase 活性，phospholipase A_2 活性を測定したが，いずれの活性も認めなかった。

⑤ 患者との関係

この因子が抽出された RA 患者は，急速かつ高度な関節破壊と強い全身性組織傷害を伴っていた。

2）インヒビター：

① 細胞傷害性因子に対する健常者血清の効果

上記の細胞傷害因子に健常者血清を加えると，その細胞傷害活性が抑制された。

② 健常者血清からのインヒビターの粗精製

健常者血清をサイズ排除マロマトグラフィーにて分画した。中心分子量32 kd の分画が細胞傷害抑制作用を持ち，インヒビターの存在が考えられた。

③ インヒビターの生化学的特性

熱処理にて細胞傷害抑制作用は低下した。また，trypsin 処理にて失活し蛋白であることが解った。

3）細胞傷害生因子及びインヒビターの臨床的意義（RA 病型との関係）：

健常者（4例）及び我々の提唱する RA 3病型，即ち少関節破壊型病型（LES，2例），多関節破壊型病型（MES，4例），ムチランス型病型（MUD，3型）の患者血清について，それぞれ細胞傷害性活性，インヒビター活性を測定した。細胞傷害性活性は健常者，LES，MES，MUD それぞれ，9.3 ± 6.7，12.1 ± 2.2，79.4 ± 23.5，99.1 ± 0.6%であった。インヒビター活性は健常者，LES，MES，MUD でそれぞれ，62.0 ± 9.4，26.0 ± 17.7，32.0 ± 13.6，2.4 ± 1.6%であった。健常者及び LES ではインヒビター活性が高かった。MUD では細胞傷害性活性が高くインヒビター活性はほとん認めなかった。また MES では，症例により両方の活性を持つことが解った。

（総　　括）

我々は，強い全身性組織傷害を伴う重症RA患者の末梢血血清そのものが自己末梢血単核球を傷害する例があることを見いだし，この細胞傷害が分子量900 kdの物質によることを見いだした。また，健常者の血清が，この細胞傷害を抑制することを見いだし，この抑制因子（インヒビター）が分子量32 kdの蛋白であることを見いだした。RAの全身性組織傷害は，この2つ物質のバランスにより説明できると考えられた。

論文審査の結果の要旨

慢性関節リウマチ（RA）では，関節局所の組織破壊に関しては多くの研究がなされてきた。しかし，貧血や骨粗鬆症を始めとするRA全身性組織傷害については全く不明である。本研究では，強い全身性組織傷害を伴う重症RA患者の末梢血血清より，新たな細胞傷害性因子を見出し，これが自己細胞を始めとし非特異的細胞破壊を起こすことから，RA全身性組織傷害の原因物質として重要であることを示した。またさらに，この傷害性因子に対するインヒビターも同時に見出し，RA重症度がこの2つの因子の量的関係から成り立つ可能性を示した。ここで，本研究者のグループはRA骨髄で骨髄球系細胞の異常な増殖が起こっていることを既に報告しており，RA末梢血中では，本研究の細胞傷害性因子が持続的な細胞破壊を起こし，他方，骨髄では異常な細胞増殖が起こるとなれば，RA炎症慢性化の要因としても重要な発見と考えられる。従来，全く解明されていなかったRA全身性組織傷害のメカニズム，また炎症慢性化のメカニズムを解析する手がかりを与えた点で有意義な研究と言える。