

Title	BONE MARROW STROMAL CELLS CONTRIBUTE TO SYNOVIAL CELL PROLIFERATION IN RATS WITH COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS
Author(s)	中川, 滋人
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/39020">http://hdl.handle.net/11094/39020</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	中川 滋 人
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11816 号
学位授与年月日	平成 7 年 3 月 23 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	BONE MARROW STROMAL CELLS CONTRIBUTE TO SYNOVIAL CELL PROLIFERATION IN RATS WITH COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS (ラット実験的関節炎の滑膜増殖における骨髄細胞の関与)
論文審査委員	(主査) 教授 越智 隆弘 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 荻原 俊男

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

我々は慢性関節リウマチなどの免疫亢進に伴う多発性関節炎において、なぜ関節が免疫反応の標的臓器となり、どのような機序で関節内の滑膜増殖が引き起こされているかを知る目的で研究を進め、骨髄が重要な病巣となることを明らかにしてきた。そして、コラーゲン関節炎(CIA)やアジュバント関節炎に先行して、骨髄内の細胞の分化、増殖および骨髄内でのIL-1、IL-6活性の上昇が起きることなど、多発性関節炎における様々な骨髄の反応を見出した。滑膜炎の発症に骨髄が関与するとすれば、その発症病態には以下の2つの要因が考えられる。即ち、骨髄内で上昇した活性因子が関節腔内に作用し滑膜増殖をきたす可能性と、骨髄内で活性化された細胞成分が関節腔内に遊走し滑膜増殖を引き起こす可能性とである。本研究の目的は、あらかじめ骨髄細胞を標識したラットに関節炎を発症させて、標識された骨髄細胞が増殖滑膜組織に移行するかどうかの検討である。

#### 【方法】

5週令無処置ルイスラットより得た骨髄間葉系細胞のうち、マクロファージを完全に除いた主にストローマ細胞を以下の方法で標識し、5週令無処置及び脾臓摘出ルイスラットの腹腔内に注入することにより骨髄の標識を行った。

1) 最終濃度1 mCi/mlのトリチウムサイミジン ( $^3\text{H-TdR}$ ) を培地に加え、48時間パルスにて細胞核を標識。2) 細胞蛍光標識キット(大日本製薬)を用い、PKH26蛍光色素で細胞膜を標識。まず、RI標識細胞を移入したラットを2日後に屠殺し、採取した各組織(骨髄、滑膜、脾臓、肝臓、腎臓、皮膚)の液体シンチレーション計測を行い、標識細胞の体内分布を調査した。次に、脾臓ラットにTrenthamらの方法にしたがって2型コラーゲンを感作し、CIA発症前後で各週毎に屠殺、標識細胞の滑膜組織への移行の有無を経時的に検討した。RI標識組織は4-6週の暴露にてオートラジオグラフィーを行い、蛍光標識組織は凍結切片を蛍光顕微鏡にて観察した。

#### 【成績】

液体シンチレーション計測の結果、無処置ラットにおける高い放射活性の主な集積は骨髄(30%)と脾臓(36%)であったが、脾臓ラットでは骨髄に全体の62%の放射活性が集積した。一方、滑膜組織ではいずれのラットにおいてもバックグラウンドレベルの活性しか検出されなかった。

CIA発症に伴う標識細胞の滑膜組織への移行を経時的に観察すると、感作後1週目の滑膜組織では細胞成分が乏しく標識細胞も認めなかった。しかし、後足部を引きずる感じが認められる2週目には滑膜組織中に標識細胞が存在し、

増殖する骨髄の標識細胞が関節軟骨と滑膜組織の付着部の間に存在する bare area を通して滑膜組織と連続する像もみることができるようになった。明らかに後足部が発赤、腫脹し、足関節が強直状態となる3週目には、骨髄と関節腔との交通が拡大し、多数の標識細胞が滑膜組織に侵入する像が見られた。標識細胞は主に滑膜表層下のストローマ細胞層に集積した。

#### 【総括】

従来、免疫亢進に伴う関節炎においては増殖した滑膜組織が骨内に侵入し、骨破壊を引き起こしていると言われてきたが、本研究により、逆に骨髄由来の細胞が関節炎の発症時に bare area を通して関節腔内に移行し、増殖滑膜の1部として関節破壊を引き起こすことがわかった。元来滑膜組織には存在せず骨髄中で微小環境を形成するストローマ細胞が、滑膜病変の病態形成に関与していることを示しており、多発性関節炎の発症病態を解明していく上で重要な知見と思われた。

### 論文審査の結果の要旨

慢性関節リウマチの原因病巣としては、これまで関節内で増殖する滑膜組織が注目され研究対象とされてきたが、本研究者のグループは関節という局所のみでなく、全身的に骨髄を重要な病巣として多彩な免疫反応が引き起こされていることを明らかにしてきた。既報にて、実験的関節炎の発症に先行して、骨髄内の細胞の分化、増殖が起こり、さらに骨髄内で IL-1、-6 活性も上昇することを示したが、これがどのように滑膜炎の発症病態に関与しているかについては不明であった。本研究は、あらかじめ骨髄を標識したラットにコラーゲン関節炎を発症させて、標識された骨髄細胞が増殖滑膜組織に直接移行するかどうかを検討したものである。そして、その結果骨髄内でさまざまな細胞の分化、増殖を制御し、微小環境を形成するストローマ細胞が関節炎の発症初期に、関節軟骨辺縁と関節包の間にあるいわゆる bare area の部分で骨を貫通する小血管腔を通して関節腔内に侵入することが明らかとなった。関節炎の増悪に伴い骨皮質を貫通する腔も拡大され、多くのストローマ細胞が骨髄から滑膜組織中に移動し、表層下層を形成した。以上の組織学的所見より、骨髄由来の間質細胞が関節腔内での炎症病態に関わっている可能性が示された。動物実験系において関節部骨髄の異常がどのように関節内滑膜の病変に関与し保ちうるかが明らかになったことで、慢性関節リウマチの病態解明に重要な示唆を与える有意義な研究であり、学位に値すると考える。