



| | |
|--------------|---|
| Title | 慢性関節リウマチ滑膜細胞の増殖機構に関する研究 |
| Author(s) | 青野, 浩之 |
| Citation | 大阪大学, 1996, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/40410 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|------------|--|
| 氏名 | 青野 浩之 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士 (薬学) |
| 学位記番号 | 第 12668 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 8 年 8 月 8 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当 |
| 学位論文名 | 慢性関節リウマチ滑膜細胞の増殖機構に関する研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 馬場 明道 (副査) 教授 真弓 忠範 教授 溝口 正 教授 東 純一 |

論文内容の要旨

慢性関節リウマチ (RA) は免疫異常を伴った関節滑膜を病変の主座とする慢性炎症性疾患であり、関節滑膜の癌細胞に類似した非常に活発な異常増殖を主な特徴として、関節滑膜に初発した炎症はやがて軟骨、骨の破壊を起こす全身性自己免疫疾患である。しかしながら、RA の病因は現在までの数多くの研究にもかかわらず不明な点が多い。本研究では、異常増殖した滑膜細胞が RA の病因に重要な役割を担っているという視点から、RA の滑膜異常増殖における滑膜細胞の活性化機構および制御機構を明確にすること、および滑膜増殖に対する抗リウマチ剤の作用を検討し、RA の病因の解析を主目的とした。

まず、RA の 1 つのモデルとしてレトロウイルスがその発症や病態に関与していることが報告されている HTLV-I 関節症を用いて滑膜増殖機序の解析を行った。4 症例の HTLV-I 関節症患者より滑膜細胞株の樹立を行い、その細胞株を用いて、滑膜増殖における HTLV-I の役割について検討した。その結果、1 例の HTLV-I 関節症患者より 131 クローンの細胞株の樹立に成功し、増殖性および HTLV-I プロウイルスの有無により I~IV の 4 つのグループに分類した。種々の細胞株の特性を検討した結果、滑膜局所では末梢血リンパ球に比べ高頻度に HTLV-I が滑膜細胞に感染し、かつ HTLV-I *tax* 遺伝子および Tax 蛋白を高発現することにより滑膜増殖に関与している細胞内遺伝子および転写因子を活性化することが示された。また、滑膜細胞は HTLV-I によって形質転換を引き起こされ、非常に強力な自律増殖能を獲得していることが示された。さらに、HTLV-I 感染細胞からのサイトカイン産生を亢進することによりパラクリン的にその他の滑膜細胞等を活性化する結果、HTLV-I 関節症の滑膜組織の異常増殖を引き起こしていることが示された。一方、HTLV-I の関与していない RA 患者においても HTLV-I 関節症の滑膜細胞と類似の性質を有した形質転換した滑膜細胞の樹立に成功し、RA においても *tax* 遺伝子類似の遺伝子によって細胞内遺伝子の活性化が生じている可能性が推測されたがその本体については今回明らかにできなかった。

次に異常増殖している滑膜組織におけるアポトーシスの関わりについて検討した。アポトーシスは個体の発生・分化のみならずウイルス感染および排除、腫瘍の退縮、寛容などにも深く関わっている。異常増殖した滑膜細胞では生体内の制御機構が働いていると推測される。そこで RA の病態進展を生体内の制御機構の関連から解析する為、RA 滑

膜組織にアポトーシスが引き起こされているか否かを検討した。その結果、異常増殖を引き起こしている RA 滑膜組織において、病理学検査および電気泳動法にてアポトーシスに特有な所見が認められた。そのアポトーシスの成立機序を検討する目的で Fas を介した経路の関与の有無を検討した。その結果、RA 滑膜細胞では機能的な Fas 抗原が過剰発現しており、アポトーシスに誘導されやすい状態にあることが示された。このことから RA 滑膜組織で認められるアポトーシスは Fas 抗原を介して引き起こされていることが示された。しかしながら、増殖する滑膜細胞をアポトーシスによって除去しているにもかかわらず、滑膜の異常増殖が続くかは現在明らかでないが、RA 患者では増殖因子によってこの除去機構が抑制されている可能性が推測される。この制御機構の抑制によって RA の患者関節内には本来非自己とみなされアポトーシスによって除去されるべき滑膜細胞が残存し、活発な異常増殖し続け、主要な関節病態を形づくっていることが考えられた。

さらに、このような滑膜細胞の異常増殖を特徴とする RA に対して種々の抗リウマチ剤が治療に用いられ、高い治療成績が得られている。しかしながら、このような薬剤は動物関節炎モデル等に対する抗リウマチ作用を示すものの、その詳細な作用機序は明らかとなっていない。そこで、RA の主因が滑膜細胞の異常増殖であるとの視点から、抗リウマチ剤の作用機序として滑膜細胞それ自身の増殖抑制作用を推測し、*in vitro* での滑膜細胞に対する抗リウマチ剤の効果を検討した。その結果、Buc および SASP は用量依存的に滑膜増殖を抑制し、それぞれ薬理用量である 100 μ M および 10 μ M 以上で有意な抑制が認められた。また、滑膜細胞からの IL-1 β および IL-6 産生能に対して Buc および SASP は滑膜増殖同様、有意な抑制作用を示した。さらに、Buc および SASP がこの滑膜増殖およびサイトカイン産生に対して細胞内遺伝子レベルで抑制的に働いているか否かを検討するため、血清刺激による細胞内遺伝子の発現レベル亢進に対する Buc および SASP の作用について解析した。その結果、Buc および SASP 処置滑膜細胞 mRNA では *c-Fos*, IL-1 β , IL-6 のシグナルは無処置に比べ減少している結果が得られた。以上の結果、抗リウマチ剤の Buc および SASP は RA の滑膜細胞に過剰発現しているサイトカインならびにプロトオンコジーン等の細胞内遺伝子の発現を抑制することにより、滑膜の異常増殖およびサイトカイン産生を抑制し、RA に対して抗リウマチ作用を有することが示された。このことから滑膜細胞の異常増殖が RA の成因に深く関与していることが推測される。

以上のことから、ウイルス感染や種々の遺伝子異常によって滑膜細胞自身のトランスフォームが引き起こされることにより、滑膜細胞内遺伝子の活性化やアポトーシス等の生体内防御系の変化が生じ、滑膜過増殖に至ることで RA の基礎病変が形成されるものであることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本論文は、異常増殖した滑膜細胞が慢性関節リウマチ (RA) の病因に重要な役割を担っているという視点から、RA の滑膜異常増殖における滑膜細胞の活性化機構および制御機構を明確にすること、および滑膜増殖に対する抗リウマチ剤の作用を検討し、RA の病因の解析を行ったものである。

モデルとして HTLV-I 関節症を用いその滑膜増殖機序を明らかにした。その結果、*tax* 遺伝子が高発現することにより異常増殖が生じること、更に RA でも同様のことを見出した。更に、アポトーシス、薬剤効果を検討し種々の知見を得ている。要約するとウイルス感染や種々の遺伝子異常によって滑膜細胞自身のトランスフォームが引き起こされることにより、滑膜細胞内遺伝子の活性化やアポトーシス等の生体内防御系の変化が生じ、滑膜過増殖に至ることで RA の基礎病変が形成されるものであることを実証した。これらの業績は薬学博士の授与に十分に値するものと判断する。