The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Adenovirus-mediated gene transfer of adiponectin reduces the severity of collagen-induced arthritis in mice
Author(s)	蛯名, 耕介
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49940
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【71】

氏　　名	蛯　名　耕　介（えび な こう すけ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２２７８０　号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	Adenovirus-mediated gene transfer of adiponectin reduces the severity of collagen-induced arthritis in mice （アデノウイルスによるアディポネクチン遺伝子導入はマウスコラーゲン誘導性関節炎の重症化を抑制する）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　下村伊一郎 （副査） 教　授　竹田　　潔　　教　授　宮坂　昌之

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

関節リウマチ（Rheumatoid Arthritis:RA）は関節内の滑膜組織への炎症細胞の浸潤や炎症性サイトカインの産生により、骨関節破壊を生じる自己免疫疾患である。RAにおいては抗自己軟骨Ⅱ型コラーゲン抗体、関節内での補体・マクロファージ・破骨細胞の活性化、ならびに滑膜組織の血管内皮細胞の接着分子発現・透過性の亢進が認められる。脂肪細胞分泌因子の一つであるアディポネクチン（APN）は抗糖尿病・抗動脈硬化・抗炎症作用を有し、メタボリックシンドロームにおいて中心的役割を担うと考えられているホルモンである。APNは*in vitro* にてマクロファージからのTNF-α・IL-6の産生や破骨細胞への分化を抑制し、血管内皮細胞の接着分子発現・透過性亢進・ケモカインCXCL12の沈着を抑制することが報告されている。一方、RA患者では健常者と比較して血中・関節内APN濃度が有意に上昇していることや、*in vitro* にてAPNが関節滑膜細胞からのIL-6などの炎症性サイトカイン産生を増加させることも報告されており、APNのRA病態における効果はcontroversialであった。そこで我々はRAモデルマウスを用いてRA病態におけるAPNの効果を検討した。

〔　方　　法　〕

RAモデルマウスであるコラーゲン誘導性関節炎マウス(collagen induced arthritis:CIA)に、APN発現アデノウイルス(Ad-APN)とコントロールであるβガラクトシダーゼ発現ウイルス(Ad-β-gal)を一匹あたり2×10^8PFU（200μl）静脈投与し、血中APN濃度を上昇させ関節炎に対する効果を判定した。オスDBA1/J6週齢マウスに異種(chicken)Ⅱ型コラーゲンをフロイント完全アジュバントでエマルジョン化したものを3週間隔で2回（day0,21）皮内注射してCIAを誘導した。CIAを誘導されたマウスでは抗Ⅱ型コラーゲン抗体が産生され、抗体の交差性より自己軟骨Ⅱ型コラーゲンに抗体が結合し軟骨表面で免疫複合体が形成される。免疫複合体は補体経路を活性化し、炎症細胞の遊走や血管透過性を促進させることで関節炎を惹起し、day26～28で発症に至る。経時的関節腫脹の変化を四肢の関節腫脹スコアでモニターした。関節腫脹のピーク(day35)でsacrificeを行い血清・関節組織・リンパ節・脾臓等各種サンプルを回収した。血中の抗Ⅱ型コラーゲン抗体価や補体価をELISA法にて測定した。リンパ節・脾臓より細胞を回収・培養し、*in vitro* にて細胞増殖をBrd-U法で、炎症性サイトカインの産生を培養上清のELISA法で測定した。関節組織は一部凍結保存後、mRNAを抽出しreal time PCRを行った。一部はホルマリン固定後レントゲン・CT評価を行い、脱灰後パラフィン切片としてH-E染色・各種抗体での免疫染色を行った。

〔　成　　績　〕

APN過剰発現群ではコントロール群と比較して関節炎発症前(day19)・発症後(day27)のいずれの時期の投与でも関節腫脹スコアが有意に抑制された。血中の抗Ⅱ型コラーゲン抗体価や補体価・リンパ球の増殖は両群で有意差を認めなかったが、軟骨表面への補体沈着・炎症細胞の浸潤・ケモカインCXCL12の沈着・破骨細胞分化が抑制されていた。また、関節での炎症性サイトカイン(IL-1β,IL-6,TNF-α,IFN-γ)や補体(C1,C3,factorB)の遺伝子発現量が低下していることや関節破壊・骨吸収が抑制されていることを確認した。脾臓細胞をⅡ型コラーゲンとLPSで刺激して培養した上清ではIL-1βとTNF-αの産生が有意に抑制されていた。リコンビナントAPNは*in vitro*での免疫複合体への補体の結合には影響を与えないことをELISA法で確認した。

〔　総　　括　〕

APNは過剰発現によりRAモデルマウスの関節内での補体沈着・炎症細胞の浸潤・骨関節破壊を有意に抑制した。APNは抗Ⅱ型コラーゲン抗体価や補体価に有意な影響を与えなかったが、脾臓細胞からの炎症性サイトカイン産生抑制や、関節内へ炎症細胞の浸潤を抑制し、軟骨表面への補体結合・活性化を抑制すると考えられた。APNはこれらの多様な抗炎症効果により関節炎の重症化を抑制することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

関節リウマチ(RA)は関節内への炎症細胞の浸潤・補体沈着・炎症性サイトカイン産生・骨関節破壊を伴う自己免疫疾患である。脂肪細胞分泌因子のひとつであるアディポネクチンは抗炎症作用を有するホルモンである。RA患者の血中アディポネクチン濃度は健常者と比較して有意に高値であることが報告されているが、そのRA病態における意義は不明であった。本研究では関節リウマチモデルマウスであるコラーゲン誘導性関節炎(CIA)マウスを使用し、アデノウイルスを用いて血中アディポネクチン濃度を上昇させることでその効果を検討している。アディポネクチン過剰発現群では関節腫脹・関節内補体沈着・炎症細胞浸潤が抑制されており、脾臓細胞からのIL-1βやTNF-αなどの炎症性サイトカインの産生が抑制されていた。この結果はRAにおける血中アディポネクチン濃度の上昇の意義を解明する上で重要な知見であり、学位の授与に値すると考えられる。