

# Functional analysis of tumor necrosis factor alpha-induced adipose-related protein (TIARP) in experimental arthritis

著者	井上 明日香
内容記述	Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (A), no. 6222, 2012.3.23 Includes supplementary treatise Includes bibliographical references
発行年	2012
その他のタイトル	自己免疫性関節炎におけるTIARPの機能解析
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/118041">http://hdl.handle.net/2241/118041</a>

氏名(本籍)	井上明日香(島根県)			
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第6222号			
学位授与年月日	平成24年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	<b>Functional analysis of tumor necrosis factor alpha-induced adipose-related protein (TIARP) in experimental arthritis</b> (自己免疫性関節炎における TIARP の機能解析)			
主査	筑波大学教授	医学博士	千葉	滋
副査	筑波大学准教授	医学博士	石井	幸雄
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	松坂	賢
副査	筑波大学講師	博士(医学)	本多	伸一郎

## 論文の内容の要旨

### (目的)

Glucose-6-phosphate isomerase (GPI) は関節炎を自然発症する K/BxN マウスの自己抗原として同定された解糖系酵素の一つである。GPI 誘導関節炎マウスは抗 TNF $\alpha$  抗体、抗 IL-6R 抗体を投与することで、顕著に関節炎が抑制されることから、関節リウマチ (RA) の病態に近いモデルと考えられている。本研究では、TNF $\alpha$  依存性の関節炎モデルを用いて、関節炎発症に関わる分子を同定するために GPI 誘導関節炎マウス脾臓を用いた DNA マイクロアレイ解析を行った結果、コントロール群に比べて約 20 倍の高発現を認めた tumor necrosis factor alpha-induced adipose-related protein (TIARP) 分子に着目し、自己免疫性関節炎における役割を明らかにすることを目的とした。

### (対象と方法)

遺伝子組み換え型 rhGPI 免疫マウス脾臓を用いて GeneChip 解析を行い、強発現を認めた TIARP に焦点をあてた。GPI 誘導関節炎マウス脾臓および関節における TIARP mRNA および蛋白発現解析を経時的に検討した。さらに TIARP 発現細胞について免疫組織化学染色法を用いて検討した。RA 患者由来末梢血単核球 (PBMC) および滑膜を用いて、TIARP のヒトホモログ STEAP4 の発現を同様に解析した。さらに C57BL/6 系統の TIARP 欠損マウスを作製し、12 ヶ月齢マウスの各種臓器を組織学的に解析した。TIARP 発現細胞であるマクロファージを用いてサイトカイン産生能、TNF $\alpha$  刺激後のアポトーシスならびに細胞増殖、IL-6 下流シグナル伝達分子の発現に与える影響を検討した。さらに若齢マウスを用いてコラーゲン誘導関節炎 (CIA) の発症率、重症度を検討した。CIA 誘導後、血清中サイトカインおよび関節局所の炎症関連分子を測定した。抗原特異的免疫応答を解析するために CIA 誘導マウスにおける CII 特異的抗体産生および T 細胞応答を検討した。CIA 誘導後、抗 IL-6 受容体抗体を投与し、関節炎の病態を解析した。

### (結果)

TIARP は GPI 誘導関節炎マウス発症早期脾臓および関節腫脹の認められる関節において高発現していた。また脾臓 CD11b<sup>+</sup> 細胞ならびに滑膜細胞で TIARP 発現を確認した。RA 患者由来 PBMC においても STEAP4

の発現を認め、滑膜組織においてはマウス同様に CD68<sup>+</sup> マクロファージで高発現を確認した。他の TIARP ファミリー分子の発現はこれらの細胞集団において認められなかった。TIARP 欠損マウスを用いた解析では、12 ヶ月齢マウス関節に軽度の滑膜炎および腱滑膜炎様病態を自然発症していた。TIARP 欠損マウスマクロファージでは TNF $\alpha$  刺激後の IL-6 の過剰産生、TNF $\alpha$  刺激後のアポトーシスの抑制および細胞増殖の増強を認めた。さらに IL-6 下流シグナルの一つである STAT3 のリン酸化も TIARP 欠損マウスで増強していた。また若齢マウスへの CIA 誘導により CIA 発症率、重症度共に TIARP 欠損マウスで著明に悪化し、血清中 IL-6 および関節局所の関節炎関連分子 (IL-6、CXCL2、MMP3 および RANKL) の発現が有意に高値を示した。一方、CII 特異的抗体価および *in vitro* での CII 再刺激による CD4<sup>+</sup>T 細胞の IFN $\gamma$ 、IL-17 産生は野生型と同等であった。抗 IL-6 受容体抗体を二次免疫と同時に投与することにより TIARP 欠損マウス関節炎の重症度は有意に減弱した。

#### (考察)

TIARP (STEA4) は複数の関節炎モデルマウスに共通に発現し、さらにマウスおよびヒトの滑膜細胞に高発現していた。他の TIARP/STEA4 ファミリー分子は、発現を認めないことから TIARP は関節炎病態特異的に増強する可能性が示唆された。また TIARP 欠損マウスを用いた検討結果から、TIARP は IL-6 などの炎症性因子の抑制を介した新たな関節炎抑制分子である可能性が示唆された。さらに CIA 病態の検討より抗原特異的 T 細胞および B 細胞の機能に変化が認められないことから、獲得免疫系を介さない制御分子であると推察される。RA の治療では免疫抑制剤を使用することで感染症などの副作用が多数報告されていることから、獲得免疫を介さない TIARP の関節炎制御機構は将来的に RA ならびに炎症性疾患をターゲットとした治療の一つとなる可能性がある。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ヒト RA に近い関節炎モデルマウスの脾臓で高発現する分子として TIARP を同定したことを出発点として、RA における TIARP の意義について検討したものである。ヒト RA 患者関節滑膜での高発現も確認し、さらに関節炎における TIARP の役割を解析するために、ノックアウトマウスを作製して種々の解析を加え、TIARP が IL-6 などの炎症性因子の抑制を介する新たな関節炎抑制分子であろうとの結論を導いた。この成果は、自己免疫性関節炎の病態解明に寄与する可能性があり、さらなる発展が期待される研究である。さらに、TIARP が細胞膜蛋白であることから、この分子そのものが RA の治療標的になる可能性を示唆する点でも、大きな意義のある成果であるといえる。

平成 23 年 12 月 22 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。