

氏名(本籍)	きた がわ みね たけ 北 川 峰 丈 (神奈川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博 甲 第 2420 号
学位授与年月日	平成12年3月24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	医学研究科
学位論文題目	Differential Regulation of Rheumatoid Synovial Cell Interleukin-12 Production by Tumor Necrosis Factor alpha and CD40 Signals (慢性関節リウマチ滑膜におけるインターロイキン-12産生のTNF- α およびCD40シグナルによる制御)
主査	筑波大学教授 医学博士 松 井 陽
副査	筑波大学教授 医学博士 関 沢 清 久
副査	筑波大学助教授 医学博士 今 門 純 久
副査	筑波大学助教授 医学博士 長 田 道 夫

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

慢性関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA) は慢性難治性の多発関節炎を主病変とする疾患であり, その罹患関節局所には組織学的に炎症性細胞浸潤, 滑膜細胞の増殖およびパンプス形成が認められる。RAの発症機構は解明されておらず, その病因には複数の機構が関与しているものと思われる。病因の一つとして, T細胞による自己免疫反応が示唆されており, 実際に関節滑膜局所には多数のCD4+T細胞が浸潤している。滑膜浸潤細胞の大部分はIL-2, IFN-gを産出するTh1タイプのT細胞であり, Th1タイプのCD4+細胞がRAの発症に重要であることが考えられている。そこで本研究は, RAの病因を明らかにするために, CD4+T細胞をTh1タイプへ強力に誘導・分化させるサイトカインの一つであるインターロイキン-12 (IL-12) に注目し, RA 関節滑膜細胞におけるIL-12産生機構を解明することを目的とした。

(対象と方法)

- 1) RA患者12名, 対照として変形性関節症 (OA) 患者5名および強直性脊椎炎 (AS) 患者2名を対象とした。
- 2) 手術時採取した滑膜組織のホモジェネート中のIL-12量および, 滑膜組織をコラゲナーゼ処理して得た滑膜細胞の無刺激時およびlipopolysaccharide (LPS) 刺激時のIL-12産生 (p40, p70) をELISA法にて検討した。
- 3) RA由来滑膜細胞のIL-12産生に及ぼすTNF- α およびCD40-CD154シグナルの影響に関してTNF- α およびCD154に対する中和抗体を用いて検討した。
- 4) TNF- α 産生阻害剤 (ホスホジエステラーゼIV阻害剤, rolipram) および抗CD4抗体を用いた磁気ビーズ法によるCD4+T細胞除去の影響に付いても合わせて検討した。
- 5) 滑膜細胞中のT細胞におけるCD154発現およびCD40陽性細胞におけるIL-12産生について蛍光抗体を用いてフローサイトメトリー法によって解析した。

(結果)

- 1) RA患者滑膜組織ホモジェネート中のIL-12 (p40; 13.2 ± 4.0 pg/ml, p70; 1.1 ± 4.0 pg/ml) は, OAおよびASのnon-RA群 (p40; 4.0 ± 2.5 pg/ml, p70; 0.3 ± 0.2 pg/ml) に比して有意に高かった。
- 2) 滑膜細胞の無刺激下およびLPS刺激下での培養24時間後におけるIL-12 P40産出は, RA患者群 (29.6 ± 8.0 pg/mlおよび 201.1 ± 55.1 pg/ml) で有意に上昇しており (non-PA; 7.5 ± 4.1 pg/mlおよび 64.7 ± 11.4 pg/ml), RA滑膜細胞におけるIL-12産生亢進が認められた。
- 3) 無刺激時のIL-12産生は抗CD154抗体 ($34.5 \pm 3.2\%$ of control response) およびCD4 + T細胞の除去 ($30.1 \pm 2.1\%$ of control response) により有意に抑制されるが, TNF- α および抗TNF- α 抗体の影響は無かった。
- 4) LPS刺激時のIL-12産生は, TNF- α によって亢進し ($256.4 \pm 94.7\%$ of control response), 抗TNF- α 抗体 ($31.1 \pm 4.8\%$ of control response) によって抑制されるが, 抗CD154抗体およびCD4 + T細胞の除去による影響は見られなかった。
- 5) rolipramは, LPS刺激時IL-12産生をIC₅₀ = 180nMで抑制し, その阻害効果は無刺激時IL-12産生に対する濃度の約1/20であった (IC₅₀ = 3700nM)。また, rolipramによるLPS刺激時のIL-12産生阻害は, TNF- α の添加によって中和されたが, 無刺激時のIL-12産生阻害はTNF- α 添加による影響を受けなかった。
- 6) 無刺激時のRA滑膜浸潤CD4 + T細胞では健常人末梢血T細胞では見られないCD154発現が確認された ($7.4 \pm 2.9\%$ of CD3 + cells)。
- 7) T細胞特異的な抗CD3抗体刺激により滑膜浸潤CD4 + 細胞上のCD154発現が6時間をピークとして上昇した ($19.0 \pm 5.3\%$ of CD3 + cells)。この際, IL-12産生亢進が見られた (無刺激; 22.6 ± 7.5 pg/ml, CD3刺激; 87.5 ± 14.3 pg/ml)。このIL-12産生はCD40 + かつCD68 + のマクロファージ様細胞によるものであった。

(考察)

RA滑膜においては, IL-12産生が亢進しており, 滑膜浸潤CD4 + T細胞のTh1タイプへの偏りの一因となっている可能性が示唆された。RA滑膜浸潤CD4 + T細胞は抗原特異的な刺激によりその細胞上にCD154を恒常的に発現しており, CD40 + のマクロファージ様滑膜細胞と相互作用によりIL-12産生を誘起していると考えられる。また, 慢性炎症状態で大量に産生されたTNF- α は非特異的な刺激と協調しT細胞非依存的にIL-12産生を亢進している可能性が示唆された。

(結果)

RA滑膜では二つの異なるIL-12産生機構が存在する。一つはCD40-CD154シグナル関与のT細胞依存性の機構で, もう一つはTNF- α 関与のT細胞非依存性の機構である。CD40-CD154相互作用の特異的阻害およびTNF- α 産生・作用阻害はRAの新たな治療に結びつくことが期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は慢性関節リウマチ患者の滑膜組織におけるインターロイキン12産生に二つの異なる機構が存在することを示唆した論文で, 難治性である本疾患の新しい治療に結びつく可能性のある, 臨床的価値の高い研究である。以上からこの論文は学位に十分値するものと評価する。

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。