氏　　名	川口　星美
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第　８６９８　号
学位授与年月	平成　３０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	Specific increase of citrullinated inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 in sera with experimental and rheumatoid arthritis （関節炎モデルマウスと関節リウマチにおける血清中シトルリン化 inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 の特異的な増加とその意義の解析）
主　　査	筑波大学教授　博士（医学）　藤本　学
副　　査	筑波大学准教授　博士（医学）　三島　初
副　　査	筑波大学准教授　博士（医学）　森島　祐子
副　　査	筑波大学講師　博士（医学）　田原　聡子

論文の内容の要旨

川口星美氏の博士学位論文は、関節炎モデルマウスおよび関節リウマチ(RA)患者検体を用いて、シトルリン化タンパク質の局在と同定、そのバイオマーカーとしての意義およびに病因的役割について検討したものである。その要旨は以下の通りである。

（目的）

RA の発症や進行において、自己抗原となるシトルリン化タンパク質は重要な役割を果たしていると考えられるが、その産生機序や病因的関与はまだ明らかでない。著者は、関節炎モデルマウスを用いて、シトルリン化タンパク質の局在や病因的役割について探究している。また RA においても、シトルリン化タンパク質の発現や疾患活動性との関与について検討し、新規の血清マーカーとしての役割について検討している。

（対象と方法）

著者は、ペプチド glicoprotein I（pGPI）を DBA/1 マウスに免疫し、関節炎を誘導している（pGPI 誘導関節炎；pGIA）。pGIA 血清中の抗 pGPI 抗体価、抗シトルリン化タンパク質抗体（ACPA）価を ELISA を用いて測定している。また、pGIA の関節、皮膚（pGPI 免疫部位）のシトルリン化タンパク質の検出

には免疫組織化学染色を、pGIA および RA 患者の血清中のシトルリン化タンパク質の検出にはウェスタンブロットを、それぞれ用いている。pGIA および RA 患者の血清中に共通して認めたシトルリン化タンパク質を同定するため、血清の二次元電気泳動および質量分析で解析した。同定されたシトルリン化タンパク質について、RA の疾患活動性との関連や治療反応性について検討した。さらに、pGIA に Cl-amidine（PAD inhibitor）を投与し、関節炎や ACPA、シトルリン化タンパク質の発現、サイトカイン産生、抗原特異的 T 細胞応答について検討している。

（結果）

著者は、pGIA 血清中の抗 pGPI 抗体価、ACPA は免疫後 day 14 から増加し、コントロールと比較して有意に上昇したとしている。関節では、day 14（関節炎ピーク期）において関節内の滑膜過形成の部位にシトルリン化タンパク質の発現を認めた。一方、皮膚では、day 7（前関節炎期）において、皮内免疫部位周辺に浸潤する炎症細胞にシトルリン化タンパク質の発現を認めた。pGIA 血清中のシトルリン化タンパク質は、ウェスタンブロットにより 120 kD の位置に共通してバンドを認めた。バンドは day 7 から検出され、day 14 で有意に増加し、その後減少しており、関節炎の臨床経過と相関する経過であった。RA 血清においても、同様に 120 kD のシトルリン化タンパク質のバンドを特異的に認めたが、健常者やシェーグレン症候群患者（疾患コントロール群）では認めなかったとしている。

著者は、この 120 kD のシトルリン化タンパク質の質量分析を行ったところ、inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4（ITIH4）と同定され、数か所のシトルリン化修飾部位が同定されたことを明らかにしている。RA 患者において、ウェスタンブロットでのシトルリン化 ITIH4 のバンド陽性群は、陰性群に比較して C-reactive protein（CRP）、rheumatoid factor（RF）、DAS28-CRP 値が有意に高値であった。また、生物学的製剤治療開始前と開始 6 か月後の比較では、シトルリン化 ITIH4 値は治療反応群において治療後に有意に低下した。Cl-amidine 投与により、関節炎の臨床所見は有意に低下し、ACPA も低下傾向を示した。また、関節や皮膚におけるシトルリン化タンパク質発現、血清中のシトルリン化 ITIH4 発現は有意に抑制され、血清中の IL-6 値も著減したとしている。

（考察）

RA 滑膜中のシトルリン化タンパク質の中の一つとして同定された ITIH4 は、急性期タンパク質の性質をもち、抗炎症作用を有することが報告されている。本研究では、RA と関節炎モデルマウスにおいて、シトルリン化 ITIH4 が血清中に特異的に増加しており、これが関節炎に関与していることが示唆された。また、シトルリン化 ITIH4 値は関節炎の活動性に相関し、RA の疾患活動性を表す血清マーカーになりうると著者は考えた。Cl-amidine 投与実験では、PAD 阻害を介したタンパク質のシトルリン化の抑制が関節炎の抑制につながることが示され、シトルリン化タンパク質が、関節炎の病因において重要な役割を果たしていることが示唆されている。

審査の結果の要旨

（批評）

本研究は、RA において大きな病因的役割をもつと推測されているシトルリン化蛋白について、マウスとヒト患者の両方から解析を行い、シトルリン化 ITIH4 が血清中に増加しており、関節炎に関与してい

る可能性を明らかにした。本研究は、シトルリン化 ITIH4 のバイオマーカーとしての有用性を示すとともに、新規治療法の開発において重要な標的になりうることを示唆している点で画期的な成果であるといえる。

平成 30 年 1 月 10 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）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。