

氏 名	かき 柿 ぬま 沼 たくみ 工
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2890 号
学位授与の日付	平 成 17 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates matrix metalloproteinase 3 synthesis enhanced by oxidized low-density lipoprotein in rheumatoid arthritis cartilage (レクチン様低比重リポタンパク受容体-1は関節リウマチ軟骨における酸化低比重リポタンパクによって亢進されるマトリックスメタロプロテナーゼ-3の産生を調整する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 三 森 経 世 教 授 中 尾 一 和 教 授 戸 口 田 淳 也

論 文 内 容 の 要 旨

関節リウマチ（以下、RA）は慢性炎症性関節疾患であり、滑膜の増生、軟骨・骨破壊を特徴とする。RA 患者には脂質代謝異常が認められ、心血管系疾患の高い罹病率との関連が考えられている。RA 炎症関節液の脂質や血漿中の脂肪酸は酸化されているという研究があり、動脈硬化病変における局所炎症と酸化脂質の蓄積は長年研究されているが、最近では軟骨変性においても脂質酸化が影響していることが言われている。

血管内皮細胞から同定された酸化 LDL 受容体の一つであるレクチン様酸化 LDL 受容体（以下、LOX-1）は OLR1 と命名された細胞膜一回貫通型の C 型レクチンドメインを持った蛋白質であり、酸化ストレスや炎症刺激により発現が増加する。ザイモサン誘発性関節炎動物モデルで関節軟骨細胞における LOX-1 の mRNA 増加と関節軟骨細胞への酸化 LDL 蓄積、及び LOX-1 が関節炎と軟骨破壊に関与することが報告されている。本研究ではヒト軟骨を用いて慢性関節炎疾患である RA における酸化 LDL と LOX-1 の関与について、及び酸化 LDL の軟骨基質破壊因子であるマトリックスメタロプロテナーゼ-3（以下、MMP-3）産生亢進作用に LOX-1 が関与する可能性について検討した。

RA、変形性関節症（以下、OA）、大腿骨頸部骨折に対する手術により得られたヒト関節軟骨標本を抗 LOX-1 抗体、及び抗酸化 LDL 抗体で免疫染色したところ、両者共に RA 軟骨細胞で陽性なのに対し、OA 及び正常軟骨では両者ともに染色性は認められなかった。このことから RA 軟骨細胞において酸化 LDL とそのレセプターと考えられている LOX-1 が RA の病態に関与している可能性が考えられた。

次に関節液に貯留した酸化 LDL が軟骨基質を透過して軟骨細胞に取り込まれる可能性を検討する目的で、軟骨組織培養を行った。DiI 標識した酸化 LDL を培養液中に混入すると48時間後に軟骨細胞窩に酸化 LDL が集積していることが示された。この現象は LOX-1 中和抗体の前処理により抑制されたため、軟骨細胞に発現している LOX-1 が軟骨基質を透過した酸化 LDL の蓄積に関与していると考えられた。

さらに酸化 LDL と MMP-3 の関係を調べるために軟骨組織培養を行った。抗 LOX-1 抗体を用いた免疫染色では、酸化 LDL と共培養した軟骨で軟骨細胞の LOX-1 が陽性だったのに対し、無処置、及び LDL を作用した軟骨では染色されなかった。この試料を抗 MMP-3 抗体で免疫染色すると、酸化 LDL と共培養したものでは軟骨細胞に MMP-3 が陽性だったが、無処置、LDL 処置、LOX-1 中和抗体前処置の各試料では MMP-3 の染色は認められなかった。この培養液中の MMP-3 濃度は酸化 LDL 処置群で有意に増加していることが確かめられた。

今回の研究における最も重要な所見は、酸化 LDL と LOX-1 が RA 軟骨に特異的に認められたことと、酸化 LDL が軟骨細胞に作用して LOX-1 と MMP-3 発現を誘導することを示したことである。これは酸化 LDL が慢性関節炎による関節軟骨破壊に関与していることを示唆するものである。LOX-1 中和抗体処置により MMP-3 発現が抑制されることも示さ

れている。

以上のことから、ヒト RA 炎症関節に存在する酸化 LDL が関節軟骨に浸透して軟骨細胞に作用することにより軟骨基質破壊因子である MMP-3 産生増加をもたらす可能性が考えられた。本研究の結果から、炎症関節の酸化 LDL と LOX-1 の相互反応をターゲットにした新しい治療法が RA などの炎症性関節疾患に対しての有効な治療方法となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

関節リウマチ（RA）患者と健常者の脂質代謝の差異は以前から指摘され、炎症関節液中の酸化脂質増加や、炎症関節組織中の酸化 LDL を蓄積した泡沫細胞様の細胞の存在も報告されている。近年、軟骨基質の分解に酸化脂質が関与し、関節炎モデル動物で酸化 LDL 受容体の一つである LOX-1 の発現が軟骨細胞に増加していることが示されている。本研究では、ヒト RA において酸化 LDL の軟骨破壊への関与を明らかにする目的で、ヒト軟骨組織に対する酸化 LDL の作用を解析した。

ヒト RA 関節軟骨組織の免疫染色では軟骨細胞への酸化 LDL の蓄積と LOX-1 発現亢進していることが示された。また、ヒト関節軟骨組織培養で培養液中の酸化 LDL が軟骨基質中を浸透して軟骨細胞まで達することが確かめられた。さらにヒト関節軟骨の培養液中に酸化 LDL を添加することにより軟骨細胞での LOX-1 と軟骨破壊因子である MMP-3 の発現増加が確認された。これらの作用はすべて抗 LOX-1 中和抗体により抑制され、軟骨細胞に対する酸化 LDL の作用は主に LOX-1 を介すると考えられた。

以上の研究はヒト RA における関節軟骨破壊への酸化 LDL/LOX-1 の関与を明らかにし、RA 関節破壊の病態の解明に貢献し、酸化脂質をターゲットにした新しい RA の治療戦略開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成17年3月8日実施の論文内容とそれに関した試問を受け、合格と認められたものである。