

氏 名 石 川 裕 志
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学 位 記 番 号 医 博 第 2247 号
 学位授与の日付 平成 12 年 3 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 Inflammatory cytokines induced down-regulation of m-calpain mRNA expression in fibroblastic synoviocytes from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis
 (変形性関節症及びリウマチ性関節炎の患者から得た線維芽細胞様滑膜細胞に於いて m-カルパイン mRNA の発現は炎症性サイトカインに因って抑制される)

論文調査委員 (主 査)
 教 授 宮 地 良 樹 教 授 坂 口 志 文 教 授 中 村 孝 志

論 文 内 容 の 要 旨

カルパインは様々な組織に存在するカルシウム依存性中性シス테인プロテアーゼファミリーの一員であり、細胞増殖や分化に重要な役割を果たしている。カルパインは至適濃度の違いから μ (I) および m(II) のアイソタイプが存在する。ともに 80 kD/ 30 kD のヘテロダイマーとして合成され自己分解の結果、活性を持つ。一旦活性化されるとカルパインは細胞内を移動し核へ至り細胞増殖や分化に関わる核タンパク、転写因子、キナーゼの分解を制御する。カルパイン活性は内因性インヒビターであるカルパスタチンによって制御される。は乳類のカルパスタチンはスプライシングの違いにより、組織タイプと赤血球、タイプに分類される。

リウマチ性関節炎 (RA) は、滑膜細胞の増殖、滑膜の持続的な炎症等を特徴とする。滑膜組織は少なくとも 2 種類の細胞を含む。1 つはマクロファージ様のタイプ A 細胞であり、他方は線維芽細胞様のタイプ B 細胞である。RA の特徴である滑膜増殖はタイプ B 細胞の局所的な増殖によるものである。この細胞はプロスタグランジン、メタロプロテアーゼ、サイトカインなどを分泌することに因って炎症機序に関与している。

変形性関節症 (OA) はプロテオグリカンやコラーゲン含有量の減少及び特性の変化により軟骨破壊をひき起こす。初期原因として蛋白分解活性の増大が考えられる。

これまで我々のグループは以下の事実を明らかにしている。第一に OA, RA の関節液中に m-カルパインが存在する。第二に RA においてはカルパインの合成はタイプ B 細胞で行われている。第三に in vitro においては m-カルパインはプロテオグリカナーゼ活性をもつ。以上から OA, RA における関節軟骨破壊にさいしてカルパインもまた重要な役割を持つと推測される。

今回我々は炎症関節液中に存在が報告されている TNF- α , IL-1 β , IL-6 がヒト培養滑膜細胞においてカルパイン-カルパスタチン系 m-RNA の発現にどのような影響を与えるかを調べた。

OA, RA 患者から採取した炎症滑膜細胞のうちタイプ B 細胞のみを選択的に培養し以下の実験を行った。0.1 ng/ml IL-1 24 h 刺激による m-カルパイン及び組織型カルパスタチン mRNA 発現量の変化。0, 2, 4, 12, 24 h IL-1 刺激による m-カルパイン mRNA 発現量の変化 (timecourse)。0, 0.1, 1.0, 10.0 ng/ml IL-1 24 h 刺激による m-カルパイン mRNA 発現量の変化 (dose-response curve)。更に RA 滑膜細胞に対し IL-1, IL-6, IL-1 + TNF, IL-1 + TGF 24 h 刺激に対する m-カルパイン mRNA 発現量の変化を調べた。

OA, RA ヒト培養滑膜細胞において、m-カルパイン及び組織型カルパスタチンは、IL-1 刺激によって、mRNA レベルで、有意に低下する事が明らかとなった。dose-response curve では OA, RA 両ヒト培養滑膜細胞において m-カルパイン

mRNA 発現量は既に 0.1 ng/ml IL 1 刺激によって有意なる低下が観察された。time-course では m-カルパイン mRNA 発現量は OA に於いては 12 h 後 RA に於いては 24 h 後に有意なる低下が観察された。更に RA 培養滑膜細胞に於いては、m-カルパイン mRNA 発現量は IL-6 刺激では変化は見られず、IL-1 + TGF, IL 1 + TNF 刺激によって低下が見られた。細胞外軟骨基質破壊への関与についてはタンパクレベルでの発現量の解析結果を待たねばならないが、m-カルパイン-カルパスタチン系が複雑に機能している可能性がある。

論文審査の結果の要旨

これまでの研究で、①変形性関節症 (OA)、リウマチ性関節炎 (RA) の関節液中に m-カルパインが存在する、②RA において線維芽滑膜細胞が m-カルパインを産生している、③in vitro において m-カルパインはプロテオグリカナーゼ活性を持つことが明らかになった。

今回、申請者らは、ヒト培養滑膜細胞におけるカルパイン-カルパスタチン系 mRNA に対する TNF- α , TGF- α , IL 1- β , IL 6 の影響を調べた。OA 及び RA 培養滑膜細胞において、m-カルパイン並びに組織型カルパスタチン mRNA 発現量は IL 1 刺激で有意に低下した。OA 滑膜細胞では IL 1 投与後 12 時間で、RA 滑膜細胞では IL 1 投与後 24 時間で m-カルパイン mRNA 発現量が有意に低下した。RA 滑膜細胞における m-カルパイン mRNA 量は、IL 1 + TGF, IL 1 + TNF で有意に低下したが、IL 6 は単独投与では変化が見られなかった。従って、OA, RA では、種々のサイトカインにより m-カルパイン-カルパスタチン系のバランスが崩れ、OA, RA における軟骨破壊に関与している可能性がある。

以上の研究は関節炎における関節軟骨基質破壊の解明に貢献し、新たな関節炎治療の発展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 12 年 2 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。