

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大町 康

サルファ剤の一種である 6-Sulfanilamidoindazole(6SAI)によりラットに誘発される関節炎は、その病理学的特徴および発症機序が不明のまま、抗関節炎化合物の薬効評価に広く用いられている。申請者は 6SAI 誘発ラット関節炎の病理学的な特徴と発症機序を明らかにするために本研究を実施した。

まず、6SAI 投与ラットにおける全身諸臓器の変化と関節炎との関連について検討するため、短期投与試験を実施した。肉眼的には投与 5 日以降に後肢に発赤・腫脹が認められた。組織学的には、投与 1 日後から関節滑膜および関節周囲腱滑膜に限局性の単核細胞浸潤が認められ、以後、その頻度が増加し、浮腫および線維芽細胞増生が加わった。肝臓ではグリソン鞘の浮腫および単核細胞浸潤ならびに類洞壁細胞の腫大が投与 1 日後から認められた。また、亜急性毒性試験を行ったところ、6SAI 投与群では、関節病変を含む全身諸臓器で中膜フィブリノイド変性を特徴とする動脈炎が、また、諸臓器の漿膜には単核細胞浸潤および浮腫が認められた。以上のことから、1) 6SAI 誘発関節炎は全身性炎症の一部であること、2) 動脈炎の存在から 6SAI には循環器系への影響があることが示唆された。

6SAI 誘発関節病変を詳細に検討するため、全身関節における病変の分布と推移を調べた。その結果、関節炎は足根関節にもっとも高頻度に認められ、ついで膝や手根関節に観察された。肘や肩の関節ではまれで、首や顎の関節には観察されなかった。いずれの部位の病変でも、単核細胞浸潤、浮腫、線維増生などが認められたが、好中球浸潤は軽度であり、軟骨破壊はみられなかった。次に、足根関節における早期病変を病理組織学的および免疫組織化学的(ED1,ED2,CD4,CD8,ICAM-1, NF $\kappa$ B,PCNA,TUNEL)に検索した。その結果、投与翌日から腱附着部、関節滑膜および腱滑膜に限局性の ED1 陽性単核細胞浸潤がみられ、その後、浮腫、ED1 陽性単核細胞浸潤の増強、リンパ球浸潤が加わり、炎症は周囲組織へと拡大した。投与 5 日後の炎症部位では滑膜表層細胞、浸潤炎症細胞、動脈壁が NF $\kappa$ B 陽性を示したが、投与 7 日後には NF $\kappa$ B 染色強度は減弱した。滑膜炎症部では、多くの浸潤細胞が PCNA 陽性を示したが、TUNEL 陽性細胞はごく少数であった。CD4 および CD8 陽性細胞は滑膜炎症部で少数認められた。ICAM-1 の発現に明らかな変動は認められなかった。さらに、関節病変の回復性を調べるために関節炎惹起後 12 週目まで病変を調べた結果、関節炎は速やかに消失し、2 週後には線維化し、4 週後にはほぼ正常となった。以上のことから、1) 6SAI 誘発関節炎は多発性であること、2) 足根関節の初期変化は腱附着部の ED1 陽性単核細胞浸潤であることが示され、6SAI 誘発関節炎発症と生理的運動負荷との関連および ED1 陽性単核細胞浸潤の重要性が推察された。また、本病態の速やかな回復性には、好中球浸潤が少ないことおよび炎症関連分子の発現が一過性であることが関与していると考えられた。

6SAI 誘発関節炎の発症機序を探る目的で、各種抗炎症剤(indomethacin, dexamethasone, methotrexate, cyclosporin A, L-NAME および aminoguanidine)の本モデルへの修飾作

用, および本モデルにおけるエンドトキシンの関与を検討した. その結果, indomethacin および dexamethasone が 6SAI 誘発関節炎を抑制した. また, 血中・関節局所のエンドトキシン濃度は炎症に先立って増加せず, 抗エンドトキシン剤のポリミキシン B は本病態を抑制しなかった. しかし, 6SAI とエンドトキシンを同時投与したラットには投与翌日に顕著な関節炎が惹起された. 以上のことから, 6SAI 誘発関節炎ではプロスタグランジン系が病態形成に関与していることが示された. また, 内因性エンドトキシンは 6SAI 誘発関節炎の誘発因子ではないが, エンドトキシンは 6SAI 誘発関節炎の病変形成の増悪因子であることが示された.

以上, 本研究により 6SAI 誘発ラット関節炎の病態が明らかになった. この成果は 6SAI 誘発ラット関節炎モデルを用いた化合物の薬効評価を行う上で極めて有用であり, さらには化合物誘発性関節炎の病理学的基礎知見としても重要であると考えられた. よって審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文に相応しいと判断した.