

審査の結果の要旨

村上 雅人

本研究は関節炎において重要な役割を演じるといわれている血管新生、血管新生因子受容体 1 (VEGFR-1/Flt-1) の役割を明らかにするため、関節炎モデルマウス (pX トランスジェニックマウス, pX マウス) と VEGFR1 チロシンキナーゼ欠損マウス (VEGFR-1 TK(-/-)マウス) を用いて解析し、以下の結果を得ている。

1. スピードコンジェニック法の有用性

本研究において、関節炎モデルマウスは遺伝的背景によって発症率が異なることから、VEGFR-1 TK(-/-)マウスコンジェニック系統の作製を要した。古典的コンジェニック法では、目的とする系統のマウスに何世代にも渡って戻し交配を行わなければならないが、遺伝子多型マーカーのタイピングを用いるスピードコンジェニック法により、大幅に目的となるコンジェニックマウス作製時間を短縮することが示された。実際に PCR 法による遺伝子多型マーカータイピングにより第 4 世代でドナー系統アレルが 1.7%まで低下した個体を得られ、その個体を用いた関節炎発症率の比較は本来の pX マウスと同等であったことよりコンジェニック系統作成を確認している。これらの結果からコンジェニックマウス作成においてスピードコンジェニック法が有用であることが示された。

2. 関節炎における VEGFR-1 チロシンキナーゼの役割

pX 関節炎マウスと VEGFR-1 TK ノックアウトマウスを交配し、炎症性疾患である関節炎において VEGFR-1 チロシンキナーゼシグナルの重要性を確認している。VEGFR-1 チロシンキナーゼシグナルを欠損させると、関節炎の発症、重症度において症状が容量依存的に減弱している。また病理学的検討においても、VEGFR-1 チロシンキナーゼシグナルを欠損させると滑膜過形成、炎症細胞浸潤、pannus (肉芽) 形成、骨・軟骨破の減弱が確認された。以上より、関節炎において VEGFR-1 チロシンキナーゼシグナルは、容量依存的に症状を促進させる働きがあることが示された。

3. 単球・マクロファージのサイトカイン分泌能

VEGF は血管新生作用・血管透過性亢進作用とともに単球走化性作用を有し、単球・マクロファージから産生されるサイトカインが、さらに病状を悪化させると考えられている。そこで単球・マクロファージからのサイトカイン分泌能を検討している。マクロファージからの IL-6 分泌は、VEGF-A 刺激に反応して分泌され、IL-6 の分泌は部分的に VEGF-A-VEGFR-1 シグナルに依存していることが示された。さらに VEGFR-1 チロシンキナーゼドメインを欠損した VEGFR-1 TK(-/-)、pX VEGFR-1 TK(-/-)マクロファージは、野生型マウス、ならびに pX マウスのマクロファージに比較して IL-6 分泌が低下する。以上より VEGFR-1 チロシンキナーゼドメイン欠損マクロファージは、VEGF-A 刺激に対する IL-6 分泌能そのものが低下していることが示された。同様に VEGF-A 分泌能を検討している。VEGF-A は非刺激下においても分泌がみられたものの VEGF-A 刺激でさらに分泌量が増し、それらは IL-6 と同様に VEGFR-1 チロシンキナーゼ欠損マクロファージで分泌能の低下がみられている。また TNF-alpha も VEGF-A 刺激に反応して分泌されたが VEGFR-1 チロシンキナーゼの有無による分泌量の差異は認められなかった。これらより IL-6, VEGF-A, TNF-alpha の分泌は炎症細胞である単球・マクロファージより分泌される VEGF-A が密接に関与し、それらがさらに各サイトカインの分泌を促進していることが示された。

4. 関節炎におけるマクロファージの役割

VEGFR-1 チロシンキナーゼドメインを欠失したマウスにおける関節炎症状軽減の原因は、(1)関節局所への単球・マクロファージの遊走が減少し、関節での炎症反応全体を低下させたこと、(2)さらに単球・マクロファージ自身の IL-6、VEGF 分泌が低下していたこと、これらふたつが主なものであることが示された。

以上、本論文では関節炎モデルマウス (pX マウス) と VEGFR1 チロシンキナーゼ欠損マウス (VEGFR-1 TK(-/-)マウス) を用いて、関節炎における VEGFR-1 チロシンキナーゼシグナルの重要性が示された。本研究により得られた成果は関節炎と血管新生についての理解を深めるものであり、将来的に臨床応用できることを強く示唆している。これらの成果は学位の授与に値するものと考えられる。