

論文の内容の要旨

論文題目 関節リウマチ患者滑膜に発現亢進する follistatin-related protein (FRP/TSC-36/FSTL1)の機能の検討

指導教官 徳永勝士教授
東京大学大学院医学系研究科
平成 17 年 4 月進学
博士後期課程
国際保健学専攻

氏名 江原幸和

要旨

【背景・目的】 関節リウマチ (rheumatoid arthritis : RA) は主に可動関節における慢性炎症、滑膜の異常増殖、骨破壊によって特徴づけられる、有病率が約 1%の“ありふれた疾患 (common disease)”である。RA の病態において、TNF- α (tumor necrosis factor- α)、IL-1 (interleukin-1)、IL-6 などの炎症性サイトカインが重要な働きをし、骨破壊には破骨細胞が関与することが知られている。しかし、RA 発症の機序は未だ明らかにされておらず、その分子レベルでの解明が急がれる。

当研究室における遺伝子発現プロファイリングにより、RA 患者滑膜において *FRP* (*follistatin-related protein*) 遺伝子の発現亢進が見出された。しかし、*FRP* 遺伝子の発現亢進機序および病態的役割は十分には解明されていない。RA の病態における *FRP* の役割を見出すことが本研究の目的である。

【方法】 滑膜組織における *FRP* 産生細胞を推定するために、5 種の細胞株 E11 (線維芽細胞様滑膜細胞)、U937 (単球)、Jurkat (T 細胞)、Raji (B 細胞) および Ramos (B 細胞) における *FRP* mRNA レベルを RT-PCR 法により解析した。*FRP* の機能を明らかにするために昆虫細胞発現系により、組換え *FRP* (recombinant *FRP* : r*FRP*) を作製し、線維芽細胞様滑膜細胞株 E11 の増殖およびアポトーシス誘導に及ぼす影響をそれぞれ、BrdU の取り込みおよび phosphatidylserine の表出により検討した。*FRP* が単球・マクロファージ系細胞に及ぼす影響を検討するため、U937-*FRP* 安定発現株 (U937-*FRP*) を作製し、*TNFA* 遺伝子、*IL6* 遺伝子、*NFATc1* 遺伝子および *c-fos* 遺伝子の発現量を定量的 RT-PCR 法により測定した。E11 細胞株および U937 細胞株表面における *FRP* 受容体の発現を検討するために、これらの細胞と蛍光標識した r*FRP* を用いて細胞結合アッセイを行った。

【結果】 RT-PCR 法により、E11 細胞株における *FRP* 遺伝子の強い発現が見出され、Jurkat 細胞株においても弱い発現が検出された。rFRP は E11 細胞株の増殖抑制効果を示したが、アポトーシスは誘導されなかった。細胞結合アッセイにより、U937 細胞株を PMA によって刺激することにより誘導されたマクロファージ様細胞における FRP 受容体の強発現が、E11 細胞株における FRP 受容体の極めて弱い発現が示唆されたが、同定には至らなかった。定量的 RT-PCR 法により、U937-FRP において、U937-mock または U937 と比較して、*TNFA* 遺伝子、*IL6* 遺伝子、*NFATc1* 遺伝子および *c-fos* 遺伝子の有意な発現上昇が見出された。

【結論】 RA 滑膜において線維芽細胞様滑膜細胞が産生した FRP は、その受容体を発現するマクロファージ様滑膜細胞に作用し、*TNFA* 遺伝子および *IL6* 遺伝子発現を上昇させることにより炎症を増悪させる可能性が示唆された。また TNF- α および IL-6 により、線維芽細胞様滑膜細胞において発現が促進された RANKL は、単球・マクロファージ系前駆細胞の破骨細胞への分化の過程で *NFATc1* 遺伝子および *c-fos* 遺伝子の発現を上昇させることが知られており、FRP によるこれらの遺伝子の発現上昇効果と相まって、破骨細胞分化が促進される可能性が示唆された。