

審査の結果の要旨

氏名 江原 幸和

本研究は関節リウマチ (RA) 患者滑膜において発現亢進する follistatin-related protein (FRP) の機能を明らかにするため、昆虫細胞発現系による組換え型 FRP (rFRP) の作製ならびに単球細胞株 U937 を用いた FRP 安定発現株の作製し、解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 滑膜組織を構成すると考えられる 5 種類の細胞株 E11 (線維芽細胞様滑膜細胞)、U937 (単球)、Jurkat (T 細胞)、Ramos (B 細胞)、Raji (B 細胞) を用い、RT-PCR 法により滑膜組織における FRP 産生細胞の推定を行った。E11 細胞株において、強い発現が見出されたことから、滑膜組織における主な FRP 産生細胞は線維芽細胞様滑膜細胞と考えられる。
2. 昆虫細胞発現系により作製した rFRP を用い、E11 細胞株の増殖能測定を行ったところ、rFRP は E11 細胞株の増殖を抑制することが示された。しかし、細胞表面における phosphatidylserine の表出により、アポトーシス解析を行ったところ、rFRP は E11 細胞株のアポトーシスは誘導しないことが示された。
3. 単球細胞株 U937 を用いて FRP 安定発現株 (U937-FRP) を作製し、FRP が U937 細胞株の TNF- α をコードする遺伝子 (*TNFA*)、IL-6 をコードする遺伝子 (*IL6*)、NFATc1 をコードする遺伝子 (*NFATc1*)、c-Fos をコードする遺伝子 (*c-fos*) の発現量を定量的 RT-PCR 法により測定した。U937-FRP において、mock-U937 または U937 と比較して、*TNFA*、*IL6*、*NFATc1*、*c-fos* の有意な発現上昇が示された。
4. 蛍光標識した rFRP を用い、E11 細胞株および PMA で刺激した U937 細胞株との細胞結合アッセイを行ったところ、U937 細胞株においては強い蛍光強度の上昇が、E11 細胞株においては極めて弱い蛍光強度の上昇が見出されたことから、U937 細胞株では FRP 受容体の強発現が、E11 細胞株では FRP 受容体の極めて弱い発現が示唆された。

以上、本論文は、ヒト FRP がヒト線維芽細胞様滑膜細胞株 E11 の増殖を抑制することおよびヒト FRP がヒト単球細胞株 U937 において、破骨細胞分化に必須の転写因子 NFATc1 をコードする遺伝子 (*NFATc1*) および c-Fos をコードする遺伝子 (*c-fos*) の発現を上昇させることを明らかにした。本研究はこれまで十分には解明されていなかった、RA 滑膜において発現亢進する FRP が破骨細胞分化促進因子として働きうることを示し、RA の新規治療法の開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。