

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 遠藤 努

学位論文題名

The role of Syndecan-4 in the development of autoimmune arthritis

(自己免疫性関節炎におけるシンデカン-4 の機能解析)

【背景との目的】

関節リウマチ (RA) は多くの因子が関与する代表的な自己免疫性疾患の一つと考えられ、本邦の罹患数は 70 万人に上る。従来、RA の特徴である進行性の関節炎・関節破壊に対する有効な治療法がなかったが、TNF- α 阻害薬などの生物学的製剤により関節炎の抑制が可能となった。しかしこれらの薬剤が無効な患者が多く存在し、また進行性の関節破壊を抑制できないことや重篤な感染症などの副作用が大きな問題である。このことから、RA の発症および重篤化のメカニズムを明らかにし、新薬の開発への可能性を模索することは大きな意義があると考えられた。これまで RA の病態と炎症細胞との関連については多くの研究がなされ、いくつかの臨床研究において、抗 CD20 抗体 (リツキシマブ) による B 細胞標的治療が TNF- α 阻害療法の治療抵抗例にも有効であることが実証されていることから、RA の病態には B 細胞が関与すると考えられている。また RA 患者の炎症滑膜にはリンパ濾胞様構造がしばしば観察されることや、血清中にリウマトイド因子 (RF)・抗 II 型コラーゲン抗体・抗グリコプロテイン (GPI) 抗体・抗シトルリン化 (CCP) 抗体などの自己抗体価の上昇が認められることが知られており、これらはリンパ濾胞・胚中心形成、及び自己反応性 B 細胞による自己抗体産生が RA の病態にとって重要な因子であることを示唆している。

シンデカン (Syndecan) は主要な細胞膜貫通型ヘパラン硫酸プロテオグリカンの一つであり、ヘパラン硫酸側鎖を介して細胞外基質・成長因子・ケモカインなどの受容体/リザーバーとして機能することから、炎症反応・創傷治癒・組織修復などを制御しているといわれている。Syndecan-4 (Syn4) は Syndecan family に属し、血管平滑筋細胞・内皮細胞・線維芽細胞・マクロファージなど多くの細胞に発現することから、種々の炎症反応において重要なメディエーターであると考えられている。過去の報告からは Syn4 が B 細胞系統に発現することが知られ、B 細胞機能に何らかの影響を及ぼす可能性が示唆されていた。これらのことから我々は、RA の病態を制御している B 細胞機能にとって Syn4 が重要な機能を担っている可能性を考え、マウス自己免疫性関節炎モデルにおける Syn4 の機能を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】

本研究では C57B/L6 バックグラウンドの野生型 (WT) マウスと Syn4 欠損 (Syn4 KO) マウスを用いた。両マウスにおいて、コラーゲン誘導性関節炎 (collagen-induced arthritis ; CIA)、コラーゲン抗体誘導性関節炎 (collagen antibodies-induced arthritis ; CAIA)、抗原誘導性関節炎 (antigen-induced arthritis ; AIA) の 3 つの異なる関節炎モデルを用いて、

それぞれの臨床評価・病理組織学的評価を行った。

また、CIA 誘導後の鼠径リンパ節（所属リンパ節）の免疫組織学的評価とフローサイトメトリーによる所属リンパ節の免疫細胞数・表面マーカー発現、血中活性化細胞 T 細胞数の比較を行い、ELISA によりコラーゲン特異的血清抗体価を比較した。*in vitro* 試験においてはフローサイトメトリーにより、それぞれのマウスの脾臓細胞から単離した T 細胞・B 細胞の増殖試験を行った。またケモカインチャンバーを用いてケモカインに対する B 細胞の遊走能試験を行い、更にケモカイン刺激後の B 細胞シグナリングを Western blotting により評価した。また養子免疫細胞移入によって、*in vivo* における関節病変部への活性化 T 細胞の遊走能と、所属リンパ節への B 細胞の遊走能の比較試験を行った。

【結果】

T 細胞および B 細胞依存的な関節炎モデルの CIA において、Syn4 KO マウス群は WT マウス群と比較し、関節炎の発症率・臨床スコアが有意に抑制された（WT vs Syn4 KO ; 発症率 ; 50% vs 9%、発症日 ; day18 (±4.95) vs day24 (±0)、最大臨床スコア ; 5.8 (±1.61) vs 3.0 (±9.09))。一方、T 細胞依存的な AIA と T 細胞および B 細胞非依存的な CAIA においては両マウス群ともに、臨床症状に有意差を認めなかった。

Syn4 は所属リンパ節の B 細胞に高発現し、CIA 誘導後の Syn4 KO マウスでは WT マウスと比較し、所属リンパ節の B 細胞サブセット数の減少・胚中心形成の低下が認められ、さらにコラーゲン特異的な total IgG, IgG2a, IgG2b 産生が有意に低下していた。*In vitro* において Syn4 KO マウスの脾臓由来の B 細胞は、stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) に対する遊走能と、SDF-1 添加後の Akt のリン酸化が WT マウス由来の B 細胞と比較して有意に低下していた。また *in vivo* において、CIA 誘導後の Syn4 欠損 B 細胞は所属リンパ節への遊走が有意に低下していた。T 細胞の活性化・増殖・遊走を含め、ヘルパー T 細胞機能に関しては両マウス群に有意差を認めなかった。

【考察】

T 細胞依存的な抗原に対する抗体産生には、二次リンパ組織における胚中心が中心的な役割を担うこと、更に T-B 細胞の相互作用が胚中心形成には必須であることが知られている。本研究においては、T 細胞および B 細胞依存的な CIA モデルにおいてのみ、Syn4 KO マウス群で臨床スコアが抑制され、さらに所属リンパ節の胚中心形成の障害を伴う自己抗体産生の低下が認められた。このことは Syn4 が T-B 細胞の相互依存的な病態に関与していることを支持する結果であった。また自身が高発現する B 細胞機能として、Syn4 は胚中心形成過程の B 細胞遊走に重要とされる、SDF-1 に対する遊走能を促進させることが明らかとなり、*in vivo* においても、所属リンパ節への B 細胞遊走を促進的に制御していることが確認された。過去の報告から、様々な細胞において Syn4 が CXCR4 (SDF-1 レセプター) とヘテロ複合体を形成していることが知られていることから、我々は B 細胞上の Syn4 は SDF-1 に対して CXCR4 と共同的に作用していると推察している。

【結論】

Syn4 は SDF-1 を介した B 細胞遊走を制御し、所属リンパにおける胚中心形成および自己抗体産生を促進させることで自己免疫性関節炎の病態進行を増幅させる。