HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	線維芽細胞様滑膜細胞における Ras guanine nucleotide-releasing protein 4 の増殖促進作用に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	河野, 通仁
Description	配架番号：2115
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11488号
Issue Date	2014-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56748
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Michihito_Kono_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　河野　通仁

主査　教授　佐邊　壽孝
審査担当者　副査　教授　野口　昌幸
副査　教授　大場　雄介
副査　教授　岩崎　倫政

学 位 論 文 題 名

線維芽細胞様滑膜細胞における Ras guanine nucleotide-releasing protein 4 の増殖促進作用に関する研究
(The synovial proliferative effect of Ras guanine nucleotide-releasing protein 4 in fibroblast-like synoviocytes)

本論文は、難治性関節リウマチの病態原因を明らかにし、その治療法を探索しようとするものである。

関節リウマチ(rheumatoid arthritis: RA)は慢性の滑膜炎をきたす自己免疫性疾患であるが、近年の免疫学の進歩によりその原因となる基本的な分子的機序、関与するサイトカイン類が明らかにされてきた。その結果、既に、葉酸代謝拮抗剤であるメトトレキサートや、TNFα 阻害薬、IL-6 阻害薬などが治療に用いられ、発症早期における関節破壊の抑制が可能となってきている。しかしながら、約 3 割の患者は現行の治療に不応答であり、このことは RA 病態に対する学問的理解が未だ不十分である事を示唆すると考えられる。

滑膜組織表層には線維芽細胞様滑膜細胞(fibroblast-like synoviocyte: FLS)が存在するが、FLS の異常増殖や、それに伴う不必要なサイトカインや蛋白分解酵素の産生が、RA における滑膜炎、パンヌス形成、並びに、骨・軟骨破壊に関わることが知られている。本論文は、FLS の異常増殖を引き起す分子機序を明らかにし、その抑制が RA を改善するか否かを検討することを目的とするものである。

低分子量 G 蛋白質 Ras は細胞増殖の根幹に位置する。RasGRP4 は Ras に対する guanine nucleotide exchanging factor (GEF)の一つである。これまでに、RasGRP4 はマスト細胞、単球、好中球に発現することが報告されているが、申請者らは RA 患者は健常者と比較し単球における RasGRP4 の splicing 異常が高頻度で見られる事も以前に見出しており、本分子解析の

準備は整っていた。本論文では、FLS に RasGRP4 が発現することを見出し、その基本機能と病態への関与に関して解析した。

本学病院、RA 患者 9 例、変形性関節症 5 例の滑膜組織において、RasGRP4 並びに、FLS マーカーである Cadherin-11 の発現を免疫組織化学的に解析した。同時に、RA 患者 10 例、変形性関節症患者 10 例の滑膜から FLS を分離し、RasGRP4 遺伝子発現の有無、発現するとすればその発現量と TNFα 依存性増殖性との関連性を検討した。その結果、Cadherin-11 陽性 FLS に RasGRP4 が発現するが、特に滑膜表層重層化部に高発現すること、滑膜表層の RasGRP4 陽性細胞が占める面積は RA 患者では OA 患者と比較し有意に増大していること、患者 FLS の一部に RasGRP4 遺伝子の異常な高発現が見られる事を見出した。興味深い事に TNFα 阻害薬を使用した RA 患者 4 例中 4 例で、FLS における RasGRP4 の遺伝子発現量は低下していた。FLS 培養系においては、RasGRP4 発現量と増殖性とに有意な相関性を認め、一方、TNFα 刺激は RasGRP4 発現を亢進し増殖能も亢進した。siRNA 法による RasGRP4 の knock down は FLS の増殖能を抑制し、MMP-1 と miPGES-1 の発現量を低下した。一方、RANKL、IL-6、VEGF、MMP-3 の発現量は変化しなかった。Lewis ラットを用いた動物実験も行い siRNA 法により RasGRP4 の発現を抑制する事が足関節滑膜炎を改善できることも示した。

審査にあたり、副査の野口教授から治療応用として RasGRP4 特異的 siRNA や阻害薬を考えた場合、FLS 以外の細胞への影響について質問があり、申請者は現在当該 siRNA のラット全身投与実験を行っておりその結果を待つことになるが、RasGRP4 は比較的発現細胞は限定されており、RasGRP4 欠損マウスでは明らかな奇形は認められていないことを回答した。大場教授からは FLS における RasGRP4 の splicing 異常について質問があり、現時点では FLS の splicing 異常は認められていないと回答した。また RasGRP4 knockdown による Ras 下流への影響について質問があり、ERK リン酸化の低減を認めるが、さらに検討をすすめていく予定であると回答した。岩崎教授からは FLS において RasGRP4 が高発現している患者を予想方法について質問があり、現時点では予想は困難であるが今後の検討課題であると回答した。最後に主査の佐邊教授から、RasGRP4 を高発現する FLS の増殖が TNF 依存的であることの分子機構や、RasGRP4 高発現 FLS は IL6 に応答するのかについて質問があったが、これらのことは未だ十分な解析をしておらず、今後の検討課題であると認識された。

本論文に記載された研究結果は、RasGRP4 が難治性 RA の新たな治療標的になる可能性を強く示唆したものであり、今後の RA 治療の進展に大きく寄与するものと期待される。審査会における発表も素晴らしく、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。