

論文内容要旨

論文題目

関節リウマチの滑膜におけるマクロファージ亜型と オートファジー機構の解析

責任講座： 整形外科学 講座
氏 名： 黄 漢卿

【内容要旨】(1,200 字以内)

【目的】

関節リウマチ (RA) は滑膜炎と関節破壊を主徴とする。マクロファージが滑膜炎の病態形成に深く関与するとされるが、その詳細は不明な点が多い。オートファジーは細胞内の蛋白質を分解するための仕組みの一つで生体の恒常性維持を担う。近年、様々な疾患の病態形成に関与するとされる。そこで RA 滑膜炎におけるマクロファージの形質とオートファジーの発現状況とその関連性について検討した。

【方法】

手術時に得られた組織の滑膜炎の程度を評価し、電子顕微鏡学的に細胞の微細構造を観察した。免疫組織化学的にマクロファージの亜型とオートファジー関連分子の細胞局在を検討した。ウェスタンブロット法を用いたオートファジー関連分子の発現、さらに組織から細胞を分離しフローサイトメトリー法を用いてマクロファージの亜型とオートファジー関連分子の発現、加えて細胞を培養後に刺激してその変化を検討した。合わせて炎症性を有する RA 検体と変形性関節症 (OA) との比較検討も行った。

【結果】

RA 滑膜組織は OA と比較して炎症度が強く、その主体はマクロファージ様滑膜細胞やマクロファージで、オートファジー関連構造物が豊富に観察された。M1 マーカー iNOS、M2 マーカー CD163 によるマクロファージ亜型の評価では、RA 組織に M1、M2 以外に M1 と M2 両方に反応する細胞 (M1/2) の存在を認めた。M2 マーカーの発現は過形成した滑膜表層近傍に顕著で、M1 マーカーの発現はより下層に顕著に分布する傾向があった。オートファジー関連分子である Beclin1、WIPI-2、Atg5、Atg16L、LC3、Atg3、p62、LAMP1 の発現は RA 滑膜組織に強く、特に CD68 陽性マクロファージに多く観察され、TEM-1 陽性線維芽細胞では少なかった。ウェスタンブロット解析でも RA 組織では OA よりも Beclin1、Atg5、Atg16L、LC3、Atg3 の発現が強かった。フローサイトメトリー解析では RA 検体に M0、M1、M2 以外に M1/2 の存在を認め、その割合が最も多かった。オートファジー関連分子の平均蛍光発現強度 (MFI) は M1 よりも M2、M1/2 が強い傾向にあり、MFI 積算値では M1/2 が有意に高かった。分離培養した RA 検体では炎症刺激で M1 の割合が多くなり 2 型炎症性サイトカイン刺激で減少した一方で、M2 と M1/2 の割合は炎症刺激で減少し 2 型炎症性サイトカイン刺激で増加した。

【考察】

マクロファージは刺激に応じて分極して炎症性 (M1)、抗炎症性 (M2) の形質を発現する。オートファジー機構は抗炎症機能も担うとされる。今回の研究から M1/2 の形質を有するマクロファージの存在とともに、オートファジー関連分子の発現が顕著な RA 滑膜組織の特徴が明らかとなった。炎症性を有する RA 滑膜組織では、炎症に対する生体反応の結果としてマクロファージの抗炎症性、組織修復性の機転が病態形成に関与する可能性がある。

令和 6 年 8 月 5 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学 位 論 文 審 査 結 果 報 告 書

申請者氏名：黄 漢卿

論文題目：関節リウマチの滑膜におけるマクロファージ亜型とオートファジー機構の解析

審査委員：主審査委員 浅尾 裕信

副審査委員 二口 充

副審査委員 杵本 昌彦

審査終了日：令和 6 年 7 月 24 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

関節リウマチ (RA) の病態形成にはマクロファージが深く関与している。しかし、そのマクロファージの亜型とそれらマクロファージ内で起こっているオートファジーについての詳細な解析は行われていない。

申請者は手術時に得られた RA の滑膜組織について、電子顕微鏡、免疫組織染色、イムノブロット、フローサイトメトリー等を駆使して詳細に解析した。また変形性関節症 (OA) と比較しながら以下の結果を得た。

- 1) RA では OA と比べてマクロファージを中心とした炎症度が強く、また電子顕微鏡的にはオートファジー関連の構造物が観察された。
- 2) マクロファージの亜型解析では、RA 組織に従来の分類である M1 および M2 に加え、M1、M2 両方の表現系を有する M1/M2 マクロファージを多く認めた。
- 3) マクロファージ内のオートファジー関連分子の発現は RA で亢進しており、OA と比べて炎症反応の強い RA ではオートファジー関連分子の発現亢進をイムノブロットでも確認した。
- 4) フローサイトメトリー解析でも RA 組織のオートファジーが亢進していることを示し、特に M1/M2 マクロファージをにおいて、その亢進が顕著であった。また、これらマクロファージ亜型は各種刺激により変動することを *ex vivo* の解析で示した。

手術時に得られた検体から非常に多くの解析を丁寧に行なった点は高く評価される。学位審査会ではデータの提示方法や不足したデータ、データの解釈について指摘された部分があったが、その後はほぼ適切に修正された。RA の病態とオートファジーとの関連を理解する上で、貴重な解析と思われ、本学位論文審査委員会は本研究論文を博士 (医学) の授与に値すると判定した。

(1, 200 字以内)