

論文内容要旨

論文題目

関節リウマチおよび変形性関節症の炎症性滑膜組織における
ポドプラニン発現の検討

責任講座：整形外科学講座

氏名：鈴木 智人

【内容要旨】(1,200字以内)

ポドプラニン (PDPN)は膜貫通型糖蛋白質で、様々な正常組織や悪性腫瘍に発現しているが、滑膜炎における PDPN の役割は未だよくわかっていない。本研究の目的は、第一に関節リウマチ(Rheumatoid arthritis: RA) および変形性関節症 (Osteoarthritis: OA)由来の炎症性滑膜組織における PDPN の発現状況を検討し、滑膜炎の評価に最も有用な抗体を明らかにすること、第二に RA および OA 由来の滑膜組織から分離培養した線維芽細胞様滑膜細胞 (Fibroblast like synoviocyte: FLS)に対してリポポリサッカライド (Lipopolysaccharide: LPS)による刺激を行い、炎症状態の FLS における PDPN の発現状況を明らかにすることの二つである。

第一の検討では RA11 例および OA9 例を対象とした。四肢関節手術の際に得られた滑膜組織に対して複数の抗ヒトポドプラニンモノクローナル抗体 (NZ-1, LpMab-3, LpMab-7, LpMab-10, LpMab-12, LpMab-13, および LpMab-17)を用いて滑膜組織の免疫染色を行った。BZ-H3C ハイブリッドセルカウントソフトウェアを用いて滑膜表層の PDPN 陽性細胞の定量評価を行った。この結果、LpMab-12 が最も滑膜炎の評価に有用な抗体であることが明らかとなった。

第二の検討では RA および OA の各々5 症例を対象とした。四肢関節手術の際に得られた滑膜組織から線維芽細胞様滑膜細胞 (FLS)を分離・培養し、第3 継代から第6 継代の FLS を解析に使用した。FLS を LPS (1 ng/ml)で 24 時間刺激し (LPS 刺激群), LPS 刺激を行わなかった FLS をコントロールとした (コントロール群)。PDPN, interleukin-6 (IL-6)および tumor necrosis factor- α (TNF- α)をプライマーとして、定量リアルタイム PCR 法を行った。この結果、RA, OA いずれの LPS 刺激群においても、コントロール群に比し PDPN, IL-6 および TNF- α のメッセンジャーRNA (mRNA)発現量は有意に亢進していた。RA と OA との比較では、LPS 刺激後の mRNA の増加率は、PDPN, IL-6 および TNF- α のいずれも有意差はなく同等であった。また、一次抗体として LpMab-12 を用いたウェスタンブロット法では、LPS 群はコントロール群に比し PDPN のタンパク発現量が亢進していた。

本研究の結果から、PDPN は RA および OA いずれの滑膜炎評価においても有用であり、滑膜炎の新規のバイオマーカーになる可能性が考えられた。

平成 31 年 1 月 18 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：鈴木 智人

論文題目：関節リウマチおよび変形性関節症の炎症性滑膜組織におけるポドプラニン発現の検討

審査委員：主審査委員

浅尾 裕信



副審査委員

本郷 誠治



副審査委員

渡辺 昌文



審査終了日：平成 31 年 1 月 11 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

ポドプラニンはリンパ管内皮や肺胞上皮などの正常組織や悪性腫瘍に発現する膜蛋白であるが、滑膜炎における役割は不明である。炎症性滑膜組織では、線維芽細胞様滑膜細胞 (FLS) におけるポドプラニン発現が NZ-1 単クロン抗体により確認されている。

申請者は、近年樹立された新たな 6 種の抗ポドプラニン単クロン抗体を用いて、関節リウマチ (RA) 11 例と変形性関節症 (OA) 9 例由来の炎症性滑膜組織におけるポドプラニン発現を検討した。また、RA と OA の滑膜組織由来の培養 FLS をリポポリサッカライド (LPS) で刺激し、ポドプラニンや炎症性サイトカインの産生を調べ、以下の結果を得た。

- 1) いずれの抗体でも RA の重層化した滑膜表層細胞層と間質のマクロファージおよび線維芽細胞でのポドプラニン発現を確認できた。OA では表層細胞層での発現のみを確認した。
- 2) 免疫蛍光 2 重染色では、RA での CD68 陽性マクロファージ様細胞と CD248 陽性線維芽細胞様細胞にポドプラニン発現を認めた。
- 3) 各抗体での染色性を BZ H3C ハイブリッドセルカウントソフトウェアで測定し定量評価した結果、LpMab-12 単クロン抗体が他よりも染色性は有意に高かった。
- 4) 培養 FLS を LPS 刺激した結果、ポドプラニンや炎症性サイトカイン mRNA 発現は刺激前より有意に増加したが、RA と OA 間では有意な差はなかった。

審査会では、抗ポドプラニン単クロン抗体の染色性と病態との関連性を検討することや、コントロールを含めたデータの提示方法についていくつか追加および修正が求められたが、適切に修正出来た。また、バックグラウンドや抗体の樹立方法などより幅広く知識を整理すること、実験材料や方法など正確な記述をすることなど、いくつか指摘事項があったが、対応可能であると考えられた。今後検討しなければいけない点はあるものの、本研究の結果は、ポドプラニンと炎症性滑膜炎との関連を解析するうえで重要であると考えた。審査会での質疑応答も概ね的確であり、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)