

矢部 嘉浩 論文内容の要旨

主論文

## **Immunohistological localization of Notch receptors and their ligands Delta and Jagged in synovial tissues of rheumatoid arthritis**

慢性関節リウマチの滑膜における Notch レセプター群とそのリガンドである  
Delta, Jagged の免疫組織化学的局在

矢部 嘉浩、松本 智子、弦本 敏行、進藤 裕幸

Journal of Orthopaedic Science, 10:589-594.2005

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻  
(指導教授：進藤裕幸 教授)

### **緒言**

Notch レセプターは 300kD と比較的大きな蛋白であり、哺乳類では 4 種類同定されている。Notch は膜結合型リガンドである Delta や Jagged により活性化され、その結果 Notch の細胞ドメインは切断され、核内に移行後、核内蛋白と結合して種々の標的遺伝子を発現誘導する。Notch シグナルは様々な器官の発生分化に重要であるが、そのシグナル伝達経路の異常は種々の疾患にも関与することも明らかになりつつある。慢性関節リウマチ（以下、RA）は豊富な血管新生を伴う滑膜増殖を主体とした関節炎を引き起こし、最終的に非可逆的な関節破壊をもたらす。近年 Notch の RA の病態への関与が報告されており、培養滑膜細胞で Notch1 は tumor necrosing factor- $\alpha$  で誘導され、滑膜増殖を促進する。しかし、RA 滑膜における Delta, Jagged も含めた Notch レセプターの包括的な発現状況は依然明らかでない。本研究ではこれら因子の発現分布を詳細に調べるとともに、病理所見と一致するかどうかを比較検討した。

### **方法**

手術時採取した 10 例の RA 滑膜組織のパラフィン包埋から連続切片を作製後、抗 Notch1, Notch2, Notch3, Notch4, Delta, Jagged 抗体を用い ABC 法で免疫染色を行なった。一部の標本には抗 T-cell, B-cell, vimentin,  $\alpha$ -SMA 抗体による 2 重染色を行った。また蛍光二次抗体を用いて Notch1-Jagged, Notch3-Jagged の発現分布を共焦点顕微鏡で比較した。さらに活性化により細胞膜下で切断された Notch1 を特異的に認識する抗体を用いて、

実際に活性化されているかを検討した。これら免疫組織化学の結果を半定量化し、病理所見と比較検討した。

## 結果

連続切片に対する免疫染色では Notch1, Notch3, Delta, Jagged において、全例に発現が確認された。特に乳頭状に突出した細胞密度の高い領域の増殖滑膜に強く発現しており、滑膜上皮の基底層側と間質細胞に強く発現した。しかしその発現強度は症例で異なっており、Notch1, Notch3, Jagged は同じ発現分布を示したが、Delta は間質を中心に発現していた。一方 Notch2 は 2 例の滑膜上皮の限局した領域に発現しており、Notch4 も 6 例の血管組織のみに弱い発現が観察された。Notch1 は滑膜内に形成されたリンパ濾胞にも発現しており、二重染色の結果から T 細胞、B 細胞のいずれも発現していた。また Notch3 は血管が豊富な領域における比較的微小な血管の平滑筋細胞にも発現していた。そして Notch1, Notch3 陽性細胞は vimentin にも反応し、蛍光観察の結果、Jagged と共局在していた。また活性化した Notch1 は滑膜上皮やリンパ濾胞内の Notch1 陽性細胞内に分布していた。しかし、これら Notch, Delta, Jagged の発現分布は、発症期間、投薬内容だけでなく、滑膜増生、炎症度とも明らかな関連はなかった。

## 考察

本研究から RA 滑膜では Notch1, Notch3, Delta, Jagged が高頻度に発現上昇することが明らかになった。また Notch1, Notch3 は特に滑膜増生の強い領域で vimentin 陽性の線維芽細胞様 B 型細胞に優位に発現しており、Jagged の発現分布と類似したことから、Jagged による Notch1, Notch3 の活性化が RA 滑膜増生の主体である可能性が示唆される。そして Notch1 シグナルはリンパ濾胞内の T/B 前駆細胞から T 細胞へのコミットメントを誘導することが明らかになっており、リンパ濾胞内の T 細胞が RA における炎症性サイトカインの産生主体であることを考え合わせると、Notch1 は RA の免疫異常にも関与している可能性が考えられる。また Notch3 は新生血管の平滑筋に優位に発現していたが、近年 Notch3 は血管平滑筋の成熟分化に必須であることが明らかになったことから、Notch3 の RA 滑膜における旺盛な血管新生への直接的関与も示唆された。以上の結果から Jagged 刺激による Notch1, Notch3 の活性化は RA の病態に深く関与しており、治療のターゲットになる可能性を有するものと考えられる。しかし免疫組織化学の結果は必ずしも病理学的所見とは一致しておらず、今後 stage 分類で異なる症例も含めた多検体での検討が必要と考える。