

(古賀智裕) 論文内容の要旨

主 論 文

題名

Serum amyloid A-induced IL-6 production by rheumatoid synoviocytes

リウマチ滑膜線維芽細胞による血清アミロイド蛋白 A 誘導性 IL-6 産生について

著者

古賀智裕、鳥越雅史、本川 哲、宮下賜一郎、前田由美、中村 稔、
小森敦正、相葉佳洋、植村 隆、八橋 弘、石橋大海、江口勝美、右田清志

掲載雑誌名

FEBS Letters (582 巻 5 号 579-585 頁 2008 年 3 月)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

(主任指導教員：川上 純教授)

※主任指導教員が不在の場合は、教室主任代理を記入すること。

緒 言

関節リウマチ (RA) は滑膜炎と関節破壊を特徴とする慢性炎症疾患であるが、RA 滑膜線維芽細胞 (Fibroblast-like synoviocytes: FLS) は、様々な因子により活性化し関節破壊に寄与する炎症性サイトカインを産生するため RA の病態において重要である。

血清アミロイド A 蛋白 (SAA) は、IL-6 をはじめとする炎症性サイトカインの刺激で肝細胞から産生される急性期蛋白の一つであるが、最近の報告では SAA は肝細胞以外に炎症局所の血管内皮細胞、滑膜細胞からも産生されることが明らかにされている。

また、SAA は膜貫通型レセプターである FPRL1 のリガンドであることが示されており、炎症や免疫反応を調節する重要な役割があることが示唆されている (J Immunol 2006;177:5585-5594)。

SAA は RA 患者の血清、滑液中に存在し、SAA とそのレセプターである FPRL1 は RA 患者の滑膜組織に高発現しているという報告がある (Arthritis Rheum 2004;50:1788-1799)。

以上より、SAA は RA の病態に関与していることが考えられたため、私たちは FLS に対する SAA の影響についての検討を行った。

対象と方法

1987年のアメリカリウマチ学会のRA診断基準を満たす患者のうち、滑膜切除術により得られた5名の滑膜組織を用い、酵素処理によってFLSを単離した。

FLSはSAA(0-1 μ M)で刺激し、刺激後の細胞を採取しRNA抽出、cDNA合成後に特異的プライマーを用いてFPRL1 mRNA発現をRT-PCRにて確認し、FPRL1蛋白発現は抗FPRL1抗体を用いウエスタンブロットにて確認した。

刺激後24時間のFLS培養上清のIL-6濃度をELISA法にて測定し、IL-6 mRNA発現量はリアルタイムPCR法で解析を行った。

SAA刺激後のP38とJNKのリン酸化をウエスタンブロットにて解析し、SAA刺激後のI κ B- α の発現をウエスタンブロットでFLSのNF- κ B核内移行を細胞染色で確認した。

PD98059(ERK阻害剤)、SB203580(p38阻害剤)、SP600125(JNK阻害剤)、BAY11-7082(NF- κ B阻害剤)にて1時間刺激後の培養上清中のIL-6の濃度をELISA法にて測定した。

SAA刺激後の核抽出物を用い、p65のDNA結合活性を固定化したNF- κ Bのオリゴヌクレオチドを含む96穴プレートのキットを用いて解析を行った。

結 果

FLSは、SAAのレセプターであるFRPL-1のmRNAと蛋白をSAAの刺激前後で発現していた。SAA刺激によって濃度依存性にIL-6産生増加が認められた。これに一致して、SAA刺激によりIL-6 mRNA発現量の増加が観察された。

SAA刺激によってp38、JNK1/2のリン酸化、I κ B- α のdegradation、NF- κ Bの核内移行、NF- κ Bの転写活性の亢進が誘導された。SAA刺激で誘導されるIL-6の産生は、NF- κ Bを阻害することで抑制され、ERK阻害剤、p38阻害剤、JNK阻害剤によっても部分的に抑制された。

考 察

FLSにおいてSAAが濃度依存性にIL-6の産生を誘導することが示された。さらにSAAのIL-6産生における影響はIL-6 mRNA発現の増加、NF- κ Bの核内移行の誘導とDNA結合活性の増加とも関連しており、SAAは転写レベルでIL-6産生を調節していることが考えられる。

SAAはCRPに代表される急性期炎症蛋白であるが、最近の研究では受動的な炎症産物というよりはむしろサイトカイン様の働きを行い炎症に関与している可能性が示唆されている。その例としてヒトの好中球においてSAA刺激がIL-1 β やTNF- α を誘導するという報告がある(Immunol. Let;2004:91-33-37)。

SAAはFLSからのIL-6産生を増加することでRAの病態に関与しているが、IL-6はSAAを含む急性期炎症蛋白の主要な誘導因子である。すなわち、SAA誘導性IL-6によりSAAが持続的に産生されることでRAの慢性炎症という病態が形成されることが推察される。

結 論

SAAはFLSにおける強力なIL-6の誘導因子であり、RAの病態に深く関わっていることが示唆される。