

鈴木貴久 論文内容の要旨

主 論 文

Upregulation of thrombospondin-1(TSP-1) expression in synovial tissues and plasma of rheumatoid arthritis (RA): Role of transforming growth factor- β 1 toward fibroblast-like synovial cells

(Thrombospondin-1 は関節リウマチにおいて滑膜組織及び血漿レベルで過剰発現しており、滑膜線維芽細胞では transforming growth factor- β 1 により誘導される)

鈴木貴久, 岩本直樹, 山崎聡士, 西野文子, 中島好一, 寶來吉朗, 川尻真也, 一瀬邦弘, 有馬和彦, 玉井慎美, 中村英樹, 折口智樹, 宮本力, 尾崎誠, 大山要, 黒田直敬, 川上純

掲載雑誌名・The Journal of Rheumatology (accept 06-Feb-2015)

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)

緒 言

私たちは関節リウマチ (RA) の診断における新たなバイオマーカーとして血清中の Thrombospondin-1 (TSP-1) を含む免疫複合体の有用性を報告した。TSP-1 は多様な細胞で発現している多機能糖タンパクであり、近年炎症の場において TSP-1 が重要な役割を果たす可能性が示されている。今回、私たちは RA における TSP-1 の役割を明らかにするため、1.滑膜組織における TSP-1 の発現、2. RA 患者由来の滑膜線維芽細胞での TSP-1 産生能および TSP-1 の滑膜線維芽細胞への作用、3.実臨床における血漿 TSP-1 濃度と RA の疾患活動性評価項目との相関の検討を行った。

対象と方法

2010 年米国リウマチ学会/欧州リウマチ学会 (ACR/EULAR) 関節リウマチ分類基準を満たした RA 患者からの滑膜組織、血漿および血清の検体を研究に用いたが、これらは長崎大学病院臨床研究倫理委員会の許諾を得たうえで、各患者からインフォームド・コンセントを取得した。滑膜組織は RA 患者及び変形性関節症 (OA) 患者の整形外科手術時に得、また、これら滑膜組織から滑膜線維芽細胞を分離した。

TSP-1 の滑膜組織での発現は labeled streptavidin-biotin 法を用いた免疫染色を行い、RA 患者と OA 患者を比較した。染色された領域は画像解析ソフト (WinROOF) を用いて定量化した。

次に滑膜線維芽細胞を transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1)、interleukin-1 β (IL-1 β)、IL-6、interferon- γ (IFN- γ)、tumor necrosis factor- α (TNF- α) 刺激下で培養し、定量 real-time PCR 法及び ELISA 法を用いて TSP-1 の発現量を評価した。また、TSP-1 刺激下に滑膜線維芽細胞の培養を行い、上清中の TGF- β 1、IL-6、TNF- α 濃度を測定した。

最後に実臨床における評価として、16 名の活動性 RA 患者における抗リウマチ治療前後での血漿中 TSP-1 を測定し、疾患活動性指標 (Disease Activity Score 28-ESR: DAS28-ESR) 及び、TGF- β 1、IL-6、vascular endothelial growth factor (VEGF) との相関を検討した。

結 果

各 4 例の検討において、RA 患者の滑膜組織で TSP-1 の発現は滑膜表層及び表層下層と脈管周囲に認められたのに対し、OA では脈管周囲に軽度の発現を認めるのみであり、RA で著明に発現亢進を認めた。(染色域 RA 17.2% vs OA 4.4%、 $p < 0.05$)

滑膜線維芽細胞を用いた検討では TGF- β 1 刺激により滑膜線維芽細胞からの TSP-1 の産生増強を mRNA レベルおよび蛋白レベルで認めた。一方 TSP-1 刺激に対する滑膜線維芽細胞からの TGF- β 1、IL-6、VEGF の産生の亢進は認められなかった。

実臨床での RA 16 例の検討においては、抗リウマチ治療前後で DAS28-ESR 及び血清 VEGF が有意に低下したが、TSP-1、TGF- β 1、IL-6 では有意差を認めなかった。個々の症例におけるばらつきが大きかったため、各項目の変化量についてスピアマンの順位相関係数を検討すると、TSP-1 と DAS28-ESR の変化量は有意に相関していた ($r = 0.5059$, $p < 0.05$)。また、TSP-1 と TGF- β 1 の変化量にも強い相関を認めた ($r = 0.6794$, $P < 0.005$)。

考 察

これまでの報告と同様に、私たちの検討においても RA 患者の滑膜組織では OA 患者と比較し TSP-1 の発現は亢進していた。RA や炎症の場における TSP-1 の役割は明らかになっていないが、RA における炎症の首座といわれる滑膜表層及び表層下層に発現が亢進していることから、滑膜炎に関連していることが示唆された。

今回私たちは、TGF- β 1 が RA 患者由来培養滑膜線維芽細胞において TSP-1 の産生を亢進させることを初めて示した。TGF- β 1 は炎症の制御に作用することも、また、炎症を惹起する方向に働くことも報告されている。今回の結果から、RA の滑膜において TGF- β 1 の刺激で TSP-1 の産生が亢進する一方で、TSP-1 自身が滑膜局所でサイトカインや成長因子の産生を誘導する作用は乏しいものと考えられた。RA 滑膜組織における TSP-1 と TGF- β 1 の相互作用のより詳細な解析が必要と考えられた。

実臨床における検討でも TSP-1 と TGF- β 1 は強い相関を認め、RA において TSP-1 は活動性を反映する有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。