

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	高井 千夏
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 657 号
学位授与の日付	平成 27 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Specific overexpression of tumour necrosis factor- α -induced protein (TNFAIP)9 in CD14 ⁺ CD16 ⁻ monocytes in patients with rheumatoid arthritis: comparative analysis with TNFAIP3 (関節リウマチ患者由来 CD14 ⁺ CD16 ⁻ 細胞における TNFAIP9 の高発現、TNFAIP3 との比較解析)
論文審査委員	主査 教授 河内 裕 副査 教授 成田 一衛 副査 教授 藤井 雅寛

博士論文の要旨

【背景】 Tumor necrosis factor (TNF)- α 誘導蛋白 (TNF- α induced protein, TNFAIP)9 は TNF- α 、interleukin (IL)-6、IL-1 β により誘導される 6 回膜貫通蛋白である。glucose-6-phosphate-isomerase 誘導関節炎マウスで、脾臓 CD11b⁺細胞、滑膜線維芽細胞での高発現を認め、ノックアウトマウスでは血清 IL-6 濃度上昇を伴った滑膜炎様病態の自然発症、コラーゲン誘導関節炎の増悪、抗 IL-6 受容体抗体による軽症化が報告されている。一方、別の TNFAIP である TNFAIP3 のノックアウトマウスは、全身の炎症を発症し早期に死亡するが、骨髄球系細胞特異的に欠損させると関節リウマチ類似の関節炎を発症することから、TNFAIP9 と TNFAIP3 はともに骨髄球系細胞を介し関節炎を制御している可能性が考えられている。しかし両分子のヒトにおける発現や関節リウマチ病態への関与は明らかではない。

【目的】 関節リウマチ患者末梢血における TNFAIP9 と TNFAIP3 の発現を明らかにする。

【方法】 (1) 末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)における TNFAIP9, 3 の mRNA 発現を関節リウマチ患者(n=36)と健常人(n=24)で比較した。(2) PBMC における TNFAIP9, 3 の発現細胞をフローサイトメトリー法を用いて同定した。(3) CD14⁺細胞のサブセットにおける TNFAIP9 の発現を解析した。(4) CD14⁺細胞を LPS または TNF- α で刺激し、TNFAIP9, 3 の発現を誘導した。(5) 抗 IL-6 レセプター抗体製剤であるトシリズマブ投与前と 12 週後での TNFAIP9, 3 の PBMC における mRNA 発現を測定した(n=11)。対照として細胞障害性 T リンパ球抗原(CTLA)-4 Ig 製剤であるアバタセプトについても同様に検討した(n=13)。

【結果】 (1) PBMC における mRNA 発現は TNFAIP9 では関節リウマチ患者で有意に高く (p<0.05)、TNFAIP3 は有意に低かった(p<0.05)。(2) TNFAIP9 は関節リウマチ患者、健常人ともに、末梢血 CD14⁺細胞で発現し、TNFAIP3 は CD3⁺細胞で発現を認めた。PBMC より単離した CD14⁺細胞における TNFAIP9 mRNA 発現は、

健常人に比べ関節リウマチ患者で優位に高かった($p < 0.05$)。(3) TNFAIP9 は CD14+細胞サブセットのうち、CD14bright 細胞で高発現しており、なかでも CD16 発現が低い CD14brightCD16-細胞で特に高い発現を認めた。(4) PBMC より単離した CD14+細胞を TNF- α 、LPS で刺激すると、TNF- α 、IL-6 mRNA 発現は直ちに上昇し、TNFAIP9, 3 mRNA 発現も上昇を認めた。

(5) トシリズマブ投与前と 12 週後では、PBMC における TNFAIP9 mRNA は有意に低下した($p = 0.013$)。特に治療反応良好群ではより顕著に低下していた($p = 0.08$)。一方 TNFAIP3 mRNA 発現は有意に上昇した($p < 0.05$)。アバタセプトでは投与前後の発現変動に一定の傾向は認められなかった。トシリズマブ投与 12 週後では、TNFAIP9 発現細胞である CD14+細胞、CD14bright 細胞の PBMC における割合が低下していた。また単離した CD14+細胞における TNFAIP9 mRNA 発現も低下傾向であった。

【考察、結論】申請者らは TNFAIP9 と 3 のヒト末梢血における発現について検討し、両者が異なった発現動態を呈している事を明らかとした。関節リウマチ患者末梢血では CD14+細胞における TNFAIP9 mRNA 発現が高く、特に CD14bright 細胞が高発現細胞であることが示された。CD14bright 細胞は炎症性サイトカインの高産生細胞であることが報告されており、TNFAIP9 がこれらの細胞を介して関節リウマチの病態に関与していることが示唆された。

審査結果の要旨

Tumor necrosis factor (TNF)- α 誘導蛋白(TNF- α induced protein, TNFAIP)9 および TNFAIP3 は骨髄球系細胞を介し関節炎を制御している可能性が考えられているが、両分子のヒトにおける発現や関節リウマチ病態への関与は明らかではない。

申請者らは関節リウマチ患者末梢血における TNFAIP9 と TNFAIP3 の発現を解析した。

末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)における TNFAIP9, 3 の mRNA 発現を、関節リウマチ患者($n = 36$)と健常人($n = 24$)で比較した。また PBMC における TNFAIP9, 3 の発現細胞をフローサイトメトリー法を用いて同定した。またアバタセプト、トシリズマブ投与前後でそれらの変化を解析した。

申請者らは TNFAIP9 と 3 の両者が異なった発現動態を呈している事を明らかにした。特に TNFAIP9 が CD14bright 細胞を介して関節リウマチの病態に関与していることを示唆した点に本論文の博士論文としての価値を認める。