

論文の内容の要旨

氏名：長 澤 洋 介

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Epstein-Barr Virus 感染による NOD/Shi-*scid IL-2rg^{null}* びらん性関節炎マウスモデルにおける
ヒト破骨細胞の検討

Epstein-Barr virus (EBV) は、関節リウマチ (RA) の発症に関与する環境因子である可能性が示唆されている。EBV はヒト以外新世界猿にしか感染しないため、動物実験が困難であったが、ヒト免疫化マウスの開発によって、マウスを用いた EBV 感染実験が可能となった。桑名らは、ヒト免疫化 NOD/Shi-*scid IL-2rg^{null}* マウス (以下 hNOG マウス) に EBV を感染させると、膝関節にびらん性関節炎を発症することを報告した。しかし、発症機序を含め、解明すべき点が多数残されている。

今回私は本マウスモデルにおいて、更なる検討を行った。

①高率にびらん性関節炎を発症させるための条件

EBV 感染後末梢血リンパ球中のヒト CD4 陽性細胞およびヒト CD8 陽性細胞の比率を継時的に flow cytometry で測定し、CD8 陽性細胞の上昇を指標に解剖を行った結果、EBV 感染 hNOG マウス全例に膝関節のびらん性関節炎の発症が確認された。

②膝関節の三次元構造

EBV 感染 hNOG マウスの膝関節では、3D-CT 画像上も関節包骨付着部付近の骨びらんとして観察された。

③骨びらん部局所に存在する破骨細胞の同定と由来

EBV 感染 hNOG マウスの膝関節組織切片に対して、破骨細胞のマーカーである tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) およびヒト cathepsin K に対する抗体を用いた免疫染色を行った。結果、膝関節組織骨びらん部に存在する多核細胞は、TRAP およびヒト cathepsin K に陽性を示した。また、解剖時に得たマウス骨髄細胞を、ヒト macrophage colony-stimulating factor およびヒト receptor activator of nuclear factor κ B ligand 存在下で培養し、得られた多核細胞を TRAP およびヒト cathepsin K に加え、ヒトミトコンドリアに特異的な抗体で免疫染色を行った。結果、培養された多核細胞は、TRAP、ヒト cathepsin K およびヒトミトコンドリア陽性であった。

④抗 IL-6 受容体抗体投与によるびらん性関節炎抑制効果

EBV 感染 hNOG マウスに抗 IL-6 受容体抗体を、コントロール群には IgG を投与した。結果、抗 IL-6 受容体抗体投与によって骨びらんは抑制されなかった。炎症マーカーである serum amyloid A 蛋白の継時的測定も行ったが、両群間で変動はなく、差も認められなかった。大腿骨遠位部海綿骨の bone mineral density についても両群間で差は認められなかったが、組織学的に骨びらんが強かったマウスにおいて有意に低下していることが明らかになった。

今回の研究で、私は本マウスモデル全例に膝関節のびらん性関節炎発症を確認することができ、hNOG マウスでは EBV 感染を誘因としてびらん性関節炎を発症することを確証できた。そして、本マウスモデルの膝関節局所でヒト破骨細胞が同定され、ヒト破骨細胞がマウス骨髄に生着したヒト破骨細胞前駆細胞から分化誘導されることが証明された。また、EBV 感染が、IL-6 や炎症の関与無しに、直接ヒト破骨細胞の分化誘導を引き起こし、骨髄から関節局所へ動員させ骨びらんを引き起こしている可能性、さらには骨びらんのみならず関節近傍の骨量低下という RA の病態初期の特徴を形成している可能性も示唆された。