

論文の内容の要旨

氏名：服 部 俊 夫

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ヒト顎関節滑膜由来細胞の炎症性サイトカイン発現における TNF- α および IL-17A の影響

滑膜は側頭骨関節面、下顎頭関節面、ならびに関節円板を除く非加重部構造を被覆する組織で、滑液分泌や細胞外基質の産生など、顎関節の恒常性維持に重要な組織である。顎関節症の咀嚼筋障害以外の病態で高頻度に発生する顎関節円板転位障害 (internal derangement: 以下 ID と略) および変形性顎関節症 (osteoarthritis of the temporomandibular joint: 以下 OA-TMJ と略) の両者において滑膜の炎症所見が確認されている。一方、炎症性サイトカインである tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) や interleukin-17 (IL-17)は ID 患者や OA-TMJ 患者において検出されており、顎関節の炎症病態形成において重要な因子である可能性が示唆されている。そこで本研究では、顎関節炎症病態形成における TNF- α および IL-17 の役割についてそれぞれ検討を行なうこととした。

TNF- α は代表的な炎症性サイトカインであり、従来から TNF- α 刺激滑膜細胞において、多数の炎症性遺伝子の上昇を認めること、遺伝子発現上位群には、多形核白血球、単球およびリンパ球の遊走、活性の誘導や血管新生に関与するケモカインが多く含まれることを報告してきた。しかし、生体内で働くのは遺伝子ではなくタンパク質であるため、タンパク質産生を検討する必要があると考えるが、ELISA 法等を用いて1つ1つのタンパク質量を測定するためには膨大な量のサンプルが必要となる。そこで本研究では、IDおよびOA-TMJにおける滑膜炎の発生メカニズムを解明するために、TNF- α 刺激滑膜細胞におけるケモカイン産生を antibody array を用いて検討した。

一方、IL-17は近年注目されているサイトカインであり、Tリンパ球のサブセットである Th17 より産生され、自己免疫疾患や炎症性疾患において重要な役割を担っていることが報告されている。IL-17は IL-17A (一般的に IL-17 と表記される) から IL-17F まで6つのファミリー分子が同定されている。また、IL-17は RA 等自己免疫疾患の病態形成との関わりが注目されており、膝関節滑液中の IL-17 濃度と疾患の重症度は相関することが指摘されている。近年、IDやOA-TMJ患者の滑液中でも IL-17が検出されることが報告されたが、顎関節疾患における IL-17 の役割に関する報告はない。そこで IL-17A 刺激滑膜細胞の網羅的遺伝子発現解析を行なった。

本研究では顎関節の炎症病態関連因子の検索を目的に、TNF- α または IL-17A 刺激滑膜細胞の網羅的発現解析を行い、以下の結果を得た。

- 1) Human chemokine antibody array で同定できる 38 種類のケモカインのうち、無刺激時と比較して TNF- α 刺激滑膜細胞で、増加が認められたケモカインは 7 種類であった□ そのうち、TNF- α 刺激時のタンパク質産生量上昇率は MIP-3 α が最も高く、次いで GRO α , IL-8, MCP-1, RANTES, IP-10, Fractalkine の順であった。
- 2) Antibody array で TNF- α 刺激によりタンパク質産生上昇率を確認した MIP-3 α , GRO α , IL-8, MCP-1, RANTES, IP-10 および Fractalkine は、TNF- α 刺激によって遺伝子発現量も上昇した。
- 3) 滑膜細胞では、IL-17 レセプターファミリー (IL-17RA-E) のすべての発現を認めた。
- 4) DNA microarray 解析の結果、27,583 遺伝子のうち、無刺激時と比較し IL-17A 刺激により 2 倍以上発現変動した遺伝子は 1,710 遺伝子であった。そのうち発現上昇した遺伝子は 389 遺伝子で、発現減少した遺伝子は 1,321 遺伝子であった。
- 5) Signaling pathway 解析の結果、IL-17A により発現上昇を認めた遺伝子には IL-6 やケモカインがあり、これらの遺伝子の発現変動には NF- κ B の関与が示唆された。
- 6) 滑膜細胞では、IL-6, GRO α および IL-8 の遺伝子発現量は IL-17A 刺激 4, 8, 12, 24 時間において遺伝子発現量上昇を認めた。また、MIP-3 α の遺伝子発現量は IL-17A 刺激 8, 12, 24 時間において遺伝子発現量上昇を認めた。
- 7) 滑膜細胞では、IL-17A の濃度依存的に IL-6 タンパク質産生量の上昇を認めた。また、IL-17A 刺激時間依存的に IL-6 タンパク質産生量の上昇を認めた。

8) LY294002 (PI3K inhibitor), (5z)-7-oxozeaenol (TAK1 inhibitor) および PS-1145 (IKK β inhibitor) を作用させたところ IL-17A 刺激時と比較し, IL-6 の産生量の減少が認められた. 一方, IRAK-1/4 inhibitor 作用時では IL-6 の産生量減少は認められなかった.

以上の結果から, TNF- α はヒト顎関節滑膜細胞の, ケモカインのタンパク質産生量および遺伝子発現量を上昇させ, 炎症性細胞を遊走させることが示唆された. また, IL-17A は NF- κ B を介して骨吸収に関与する IL-6 や炎症性細胞遊走に関与するケモカインの発現を上昇させることが認められた. よって, 顎関節滑液中で TNF- α および IL-17A が上昇することにより顎関節の炎症病態を形成増幅することが示唆された.