

論文の内容の要旨

氏名：石上 大輔

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Effect of IL-17 for monocyte chemotactic protein production by human temporomandibular joint synovial fibroblasts

（ヒト顎関節滑膜由来線維芽細胞様細胞のモノサイトケモタクティックプロテイン
産生における IL-17 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; ID) および変形性顎関節症 (osteoarthritis of the temporomandibular joint; OA-TMJ) では、滑膜の炎症所見が確認されている。滑膜組織中には、マクロファージ様細胞と線維芽細胞様細胞が存在することが報告されており、マクロファージ様細胞は異物排除、線維芽細胞様細胞は滑液分泌や細胞外基質の産生など顎関節の恒常性維持を担っていると考えられている。また、これら滑膜細胞の代謝変化や細胞間相互作用は、滑膜の炎症病態形成に関わっていると示唆されている。

Interleukin (IL)-17 は、T リンパ球のサブセットである Th17 より産生されるサイトカインで、自己免疫疾患や炎症性疾患に関与していることが報告されている。関節リウマチ (RA) や変形性関節症 (OA) 患者の膝関節滑液では、IL-17 濃度が上昇していることが報告され、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、ヒト顎関節滑膜から分離した培養顎関節滑膜由来線維芽細胞様細胞 (滑膜細胞) に IL-17 を作用させて網羅的発現解析を行った。解析の結果から、ケモカインのメンバーである CCL2 (monocyte chemotactic protein-1; MCP-1), CCL7 (monocyte chemotactic protein-3; MCP-3), CCL8 (monocyte chemotactic protein-2; MCP-2) に注目した。

ケモカインは、血球系細胞を組織中へと遊走させるサイトカインで、構造上の違いから CXC, CC, CX3C, C ケモカインの 4 種類に大別されている。CC ケモカインである MCP は主にモノサイト/マクロファージの遊走に関わっていることが報告されている。そこで、MCP-1, -2, -3 の経時的遺伝子発現および MCP-1 産生について研究を行なった。次に、滑膜細胞における IL-17 による MCP-1 産生におけるシグナル伝達経路の解明を目的に、p38 MAPK および NF κ B の阻害剤を用いた検討を行なった。

本研究では、顎関節滑膜の炎症病態形成関連因子の検討を目的として、滑膜細胞に IL-17 を作用させた *in vitro* 滑膜炎モデルを用いて、以下の結果を得た。

- 1) 滑膜細胞の DNA microarray 解析の結果、27,583 遺伝子のうち無刺激時と比較し IL-17 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。
- 2) 既存の Cording RNA で、IL-17 により最も発現上昇を認めた遺伝子は、CCL8 (MCP-2) であった。
- 3) MCP メンバーである MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7) の経時的遺伝子発現を、real time-PCR 法によって測定した。無刺激滑膜細胞に比べて IL-17 刺激滑膜細胞では、MCP-1 は 2, 4, 8, 12, 24 時間において、MCP-2 および MCP-3 は 4, 8, 12, 24 時間において遺伝子発現量上昇を認めた。
- 4) 滑膜細胞では、IL-17 刺激時間依存的に MCP-1 タンパク質産生量の上昇を認めた。
- 5) 3 名の患者から分離した 3 例の滑膜細胞いずれも IL-17 によって MCP-1 タンパク質産生が上昇した。
- 6) 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 刺激時と比較して MCP-1 の産生量の減少が認められた。一方、IRAK-1/4 inhibitor 作用時では MCP-1 の産生量減少は認められなかった。

以上の結果から、IL-17 は NF κ B を介して MCPs の発現を上昇させることが認められた。MCPs は、モノサイト/マクロファージを組織中へと遊走させると考えられる。そして、遊走してきたマクロファージは、IL-1 や TNF といった炎症性サイトカインを産生すること、活性酸素や細胞外基質分解酵素を産生することが報告され、関節の炎症や組織破壊を亢進させることが示唆されている。よって、顎関節滑液中で IL-17 が存在すると顎関節の炎症病態形成を増幅することが示唆された。