

藤田 俊一 氏 / 川崎医科大学 リウマチ・膠原病学 大学院生

「Tankyrase/Wnt Inhibitor Upregulates Osteoclastogenesis and Osteoblastogenesis via SH3BP2」の演題でポスター発表を行った。

Tankyrase は poly ADP ribose polymerase という酵素蛋白で、標的蛋白の分解を誘導する。代表的な標的蛋白に Wnt 制御蛋白である AXIN 蛋白があり、Tankyrase 阻害剤は AXIN の蓄積を介して Wnt 阻害作用を有し、抗癌剤や抗線維化薬への臨床応用が期待されている。一方、SH3BP2 蛋白が Tankyrase の標的蛋白であることが近年報告された。これまで、我々は細胞内アダプター蛋白である SH3BP2 が破骨細胞調節因子であることを報告し、SH3BP2 が関節炎などの骨破壊性疾患の治療標的となり得ることを明らかにしてきた。Tankyrase と SH3BP2 の関連については報告されているものの、Tankyrase の骨への作用は明らかとなっておらず、本研究では Tankyrase 阻害剤を用いて解析を行った。

まず、Tankyrase 阻害剤は、マウス骨髄マクロファージにおいて RANKL 誘導性に破骨細胞分化および機能を亢進させた。Tankyrase の阻害により SH3BP2 の発現量は増加し、その binding partner である Syk のリン酸化亢進および NFATc1 を活性化させることが明らかとなった。また、Tankyrase 阻害剤は、マウス新生仔骨芽細胞において骨芽細胞分化を亢進させた。Tankyrase の阻害により SH3BP2 の発現量は増加し、その binding partner である ABL の活性化および TAZ, Runx2 を活性化させることが明らかとなった。最も重要な点として、Tankyrase 阻害剤をマウスに 4 週間経口投与すると、脛骨および腰椎椎体ともに有意に海綿骨量は低下し、組織解析にて有意に破骨細胞数を増加させた。以上の結果より、Tankyrase が破骨細胞分化および骨芽細胞分化を調節する新規の骨代謝調節因子であること、また Tankyrase 阻害剤のマウスへの投与により破骨細胞活性化を介して骨量が減少することを明らかとした。本薬剤が抗癌剤や抗線維化薬として臨床応用される際には、潜在的な骨量減少の副作用に注意が必要と考えられた。

Tankyrase はまだまだ不明な点が多い酵素蛋白で、リウマチ性疾患における Tankyrase の挙動やその制御因子などについては報告されていない。Tankyrase の関節リウマチを含む各種病態における役割および Tankyrase を標的とした治療応用の可能性について、今後も検討していきたい。

中坊 周一郎 氏 / 京都大学医学部附属病院 免疫・膠原病内科 医員

「Protein Carbamylation Is Induced By Activated Neutrophil: Ex Vivo Analysis (活性化した好中球はタンパクをカルバミル化する— Ex vivo における検討)」の演題でポスター発表を行った。

関節リウマチ (RA) 患者の多くで抗シトルリン化タンパク / ペプチド抗体 (ACPA) が陽性となることが知られる。これはシトルリン化という翻訳後修飾を起こしたタンパクに対する抗体で、現在広く診断に用いられている。これに続き、2011 年にカルバミル化という別の翻訳後修飾タンパクに対する抗体 (抗 CarP 抗体) が RA 患者に見られることが報告された。私たちは近頃、アルブミンがこの抗 CarP 抗体の対応抗原の 1 つであることを報告した。その際、抗カルバミル化アルブミン抗体を有する RA 患者の血中ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 量は抗体を有さない RA 患者と比較して有意に多いことを併せて報告したが、MPO が好中球に多くみられることを考えると、このことは抗原および抗体の産生に好中球が関与していることを示唆した。

そこで、好中球を活性化することで実際にアルブミンがカルバミル化されるか否かを見ることとした。

結果、好中球培養液中のアルブミンは活性化刺激がなくともわずかにカルバミル化され、PMA により活性化するとさらに強くカルバミル化されることが分かった。また、活性酸素の産生にかかわる酵素である NADPH オキシダーゼを阻害する DPI によりカルバミル化は完全に阻害されることも分かり、好中球からの MPO の分泌に加えて活性酸素種の産生が蛋白のカルバミル化に重要であることが分かった。

抗 CarP 抗体は ACPA 同様に RA 発症前から陽性になることが知られており、今回の研究は RA の発症機序を考慮するうえで重要な知見であると考えられる。

好中球の研究はまだまだ進んでおらず、今後の発展に大きな期待ができる分野である。いずれは RA の完全な病態解明、そして治癒が可能な治療法の発見につながるように、研究を続けていきたい。

福田 康治 氏 / 神戸大学医学部附属病院 リハビリテーション科

「Decoy Receptor 3 up-regulates Cadherin 2 in Rheumatoid Synovial Fibroblasts」の演題でポスター発表を行った。

Decoy receptor 3 (DcR3) は TNF レセプタースーパーファミリーに属する分泌型のレセプターであり、FasL, LIGHT, TL1A の 3 つのリガンドに結合し、これらのリガンドの作用を阻害する。我々のこれまでの研究結果より、リウマチ滑膜線維芽細胞 (RA-FLS) において DcR3 は強発現しており、FasL に結合することで Fas を介した Apoptosis を阻害することが明らかとなっている。また近年 DcR3 はレセプターとしてだけでなくリガンドとして作用することが報告され、我々も DcR3 が RA-FLS において TNF α による細胞増殖効果を阻害することを報告した。さらにマイクロアレイ法を用いた網羅的解析により、RA-FLS において DcR3 により発現が制御される遺伝子プロファイルを明らかにした。その遺伝子プロファイルにおいて、DcR3 によりもっとも強力に発現を誘導される遺伝子の一つに Cadherin 2 (CDH2) を見出し、今回は RA-FLS における DcR3 の CDH2 発現制御について検討を行った。

生物学的製剤治療歴のない RA 患者の滑膜組織から得られた RA-FLS を、様々な濃度の DcR3 で刺激し、real time PCR 法を用いて CDH2 mRNA の発現を解析した。また、RA および OA 滑膜組織に対して、CDH2 について免疫組織染色を行った。実験の結果より、RA-FLS における CDH2 mRNA の発現は DcR3 刺激により濃度依存性に誘導され、また RA 滑膜組織、特にその Sub-lining layer において CDH2 が強く発現していることが明らかになった。

CDH2 は、RA-FLS において Cyclin-dependent kinase 1 の一つである p27^{kip1} を介して細胞増殖抑制に寄与するとされており、今回の結果から DcR3 が CDH2, p27^{kip1} を介して RA 滑膜増殖を抑制する可能性が示唆された。

今回の学会では RA-FLS に関する多くの発表がなされた。新たな RA 滑膜増殖制御法の開発につながるよう引き続き研究を進めていきたい。