

平成 22年 5月 18日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790699
 研究課題名（和文） 関節リウマチの病態形成におけるマスト細胞の活性化とその制御
 研究課題名（英文） Role of mast cell activation in the development of rheumatoid arthritis
 研究代表者
 布村 聡 (NUNOMURA SATOSHI)
 日本大学・医学部・助教
 研究者番号：70424728

研究成果の概要（和文）：IgG 受容体を介したマスト細胞の活性化は、関節リウマチの発症に関与することが報告されている。本研究では、IgG 受容体を介したマスト細胞活性化の制御分子である FcεRIβ鎖の機能解析を関節炎マウスのモデルを用いて行なった。野生型マウスと比べて FcεRIβ鎖 KO マウスでは抗Ⅱ型コラーゲン自己抗体投与による関節炎、骨破壊が亢進していることが明らかになった。すなわち、FcεRIβ鎖は IgG 受容体を介したマスト細胞活性化および関節炎を負に制御している分子であることが示された。

研究成果の概要（英文）：Mast cells (MCs) harboring IgG receptor contribute to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. IgG receptor on MCs, but not on other immune cells, is expressed as a tetramer including Fc receptor β chain (FcεRIβ). However, role of FcεRIβ in the development of rheumatoid arthritis is largely unknown. In the present study we investigated the function of FcεRIβ, a regulator of IgG receptor signaling, in rheumatoid arthritis employing an anti-type II collagen (CII) Ab-induced arthritis model. FcεRIβ^{-/-} mice exhibited increased severity of arthritis compared with WT mice. Consistent with this observation, histopathological analyses revealed that infiltrated lymphocytes into the synovium were more increased in FcεRIβ^{-/-} mice than in WT mice. Our findings of the present study suggest that FcεRIβ plays important roles in the regulation of inflammatory responses and that it act as an inhibitory molecule in the development of arthritis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：膠原病・アレルギー内科学

キーワード：マスト細胞，免疫学，病理学

1. 研究開始当初の背景

①今日，日本において関節リウマチの発症率，罹患率は，著しく増加しており，新たな治療法および予防法や症状をコントロールする薬剤開発の学術的，社会的意義は大きい．また，関節リウマチでは日常動作の困難に起因する患者のQuality of Life (QOL)の低下により，就労意志があるにもかかわらずニートを余儀なくされている問題点が指摘されており，患者個人のQOLの向上につながるだけでなく，ニート状態の解消といった社会的問題点の改善も期待される．

②近年，関節リウマチの病態形成にマスト細胞が関与していることが明らかにされつつある．マスト細胞は，関節リウマチ患者の滑膜で顕著な細胞数の増加を認める炎症性細胞であり，高親和性IgE受容体 (FcεRI)に加えて機能的な低親和性IgG受容体 III (FcγRIII) を発現している．IgG-抗原免疫複合体がFcγRIIIを架橋して滑膜に局在するマスト細胞を活性化し，活性化されたマスト細胞が合成・放出するTNF-α、IL-6などの炎症性サイトカインにより滑膜細胞の増殖，Tリンパ球や好中球の浸潤や組織障害が惹起される．しかしながら国内外において，マスト細胞の活性化を標的にした関節リウマチの治療法開発の試みはほとんど行われていない．

2. 研究の目的

FcεRIβ鎖は，FcεRI の構成分子であるが，マスト細胞においてはFcγRIII の構成分子でもある．すなわちマクロファージや好中球の

FcγRIII は，β鎖を発現しないためにαγ2型の3量体構造をとるが，マスト細胞のFcγRIIIはαβγ2型の4量体構造をとる．申請者らは，FcεRIβ鎖によるFcγRIIIを介したマスト細胞の活性化制御機構を関節リウマチ治療の新たな分子標的として考え，FcγRIIIを介したマスト細胞の活性化におけるFcεRIβ鎖の役割を明らかにすることを目指した．

3. 研究の方法

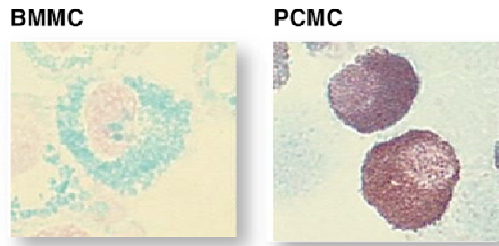
①関節炎誘導法：マウスに2mgの抗II型コラーゲン自己抗体のカクテルを静注し，その3日後に100μgのLPS (*Escherichia coli* 0111: B4)を腹腔内投与することにより関節炎の誘導を行なった．

②抗II型コラーゲン自己抗体によって誘導された関節炎の症状を，1)関節の腫れ，2)組織染色による炎症性細胞の浸潤数から判定を行なった．

③マスト細胞の調製

通常，マスト細胞の研究に良く用いられる粘膜型のマスト細胞 (BMMC) はFcγRIIIを介した細胞応答性に乏しいため，マウスの腹腔から細胞を採取し，SCF存在下で長期間培養することによって組織結合型のマスト細胞 (PCMC)を調製した．図1に示すように組織結合型のマスト細胞は粘膜型のマスト細胞と異なり，アルシアンブルー/サフラニンOによって茶褐色に染色される (図1)．

図 1



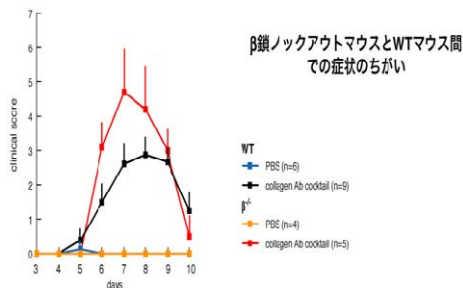
④FcεRIβ鎖欠損マウスおよび野生型マウスから上記の方法で組織結合型マスト細胞を調製し IgG 受容体を介した TNF-α、IL-1β、および IL-6 発現誘導について Real-Time PCR 法を用いて解析を行なった。

4. 研究成果

① FcεRIβ鎖欠損マウスにおける関節炎の亢進.

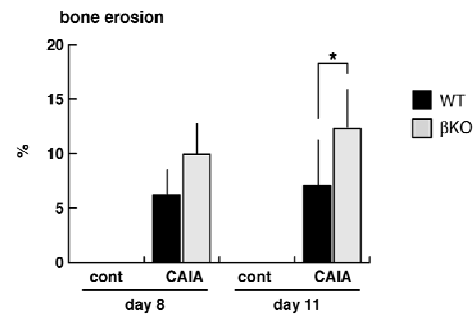
最初に、FcεRIβ鎖の欠損が関節炎の症状にどのような影響を及ぼすのかを臨床スコアを用いて評価を行なった。図 2 に示すように、野生型マウスと比較して、FcεRIβ鎖欠損マウスで関節炎の症状がより増悪している結果が得られた。その特徴としては早期から関節の腫れを認め、腫れのピークも野生型マウスよりも早く誘導されていることが明らかになった。

図 2

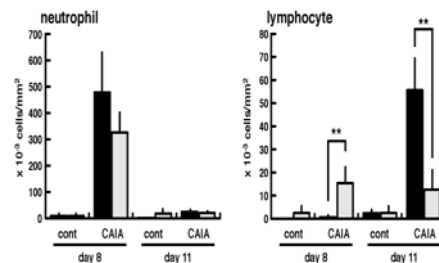


そこでさらに我々は、マウスから組織を調製し、HE 染色による評価を行なった。滑膜組織面積における骨びらんの割合を解析した結果を図 3 に示す。Day8 では統計的有意差は認められなかったが、Day11 では FcεRIβ鎖欠損マウスにおいてより骨びらんが認められた面積が拡大していることが明らかになった。すなわち、FcεRIβ鎖欠損マウスでは組織学的にも抗 II 型コラーゲン自己抗体投与による骨破壊が亢進していることが示された。

図 3



次に滑膜組織に浸潤している好中球数とリンパ球数について解析を行なった。その結果、好中球数に差異は認められず、興味深いことにリンパ球数に顕著な差が認められた。しかしながら、現時点でこのリンパ球のサブタイプについては不明であり、現在その同定を行

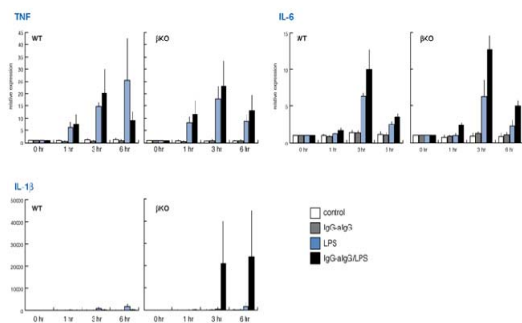


また、分子的機序を明らかにする目的で FcεRIβ鎖欠損マスト細胞における IgG 受容体を介した TNF-α、IL-1β、および IL-6

発現誘導能について解析を行なったところ、TNF-alpha、IL-6 の発現誘導は野生型マスト細胞との間で顕著な違いは無かったが、IL-1beta 発現は FcεRIβ鎖欠損マスト細胞において有意に増強されていることが明らかになった（図 5）。以上の研究結果から、FcεRIβ鎖が IgG 受容体を介したマスト細胞の活性化を負に制御していることが初めて示され、特に抗Ⅱ型コラーゲン自己抗体による関節炎の発症に深く関与することが明らかになった。現在は、骨破壊のメカニズムに着目し、マスト細胞がこのメカニズムにどのように関与するのか破骨細胞とリンパ球の解析を進めている。

図 5

LPS刺激およびFcγRIIIを介した培養マスト細胞の活性化に与えるβ鎖の影響（1）



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

布村 聡 (NUNOMURA SATOSHI)

日本大学・医学部・助教

研究者番号：70424728