

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659703

研究課題名（和文） 関節リウマチの骨/軟骨破壊における Syndecan4 の関与

研究課題名（英文） The role of Syndecan4 in the development of rheumatoid arthritis

研究代表者

高橋 大介 (TAKAHASHI DAISUKE)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：90528845

研究成果の概要（和文）：

これまでに我々は、Syndecan4 KO (Syn4 欠損) マウスの関節リウマチ (RA) モデル (CIA : collagen-induced arthritis) を用いて、Syn4 の欠損により関節炎の重症度・発症率が有意に低下することを明らかにした。また Syn4 が所属リンパ節の B 細胞に高発現していることを明らかとし、さらに Syn4 KO マウスの所属リンパ節では、B 細胞が効率よく抗体産生を行う場として重要な胚中心 (germinal center) 構造の形成異常と、胚中心形成に関与する B 細胞亜群数が有意に低下していることを示した。またその結果として、自己組織の障害を引き起こす IgG サブクラス (total IgG, IgG2a, IgG2b) の抗体産生が Syn4 KO マウス群で有意に低下していたことも明らかとした。このことから、Syn4 は B 細胞応答を制御し、胚中心形成さらには抗体産生を促進させることで、RA の病態に深く関わっている可能性がある。

研究成果の概要（英文）：

In this study, to try to understand the role of Syndecan4 in the development of Rheumatoid Arthritis (RA), we have compared Syn4-deficient (Syn4 KO) mice and wild-type (WT) mice in collagen-induced arthritis (CIA) model. Syn4 KO mice revealed attenuated clinical severity and pathological features in CIA model. Syn4 was mainly expressed on B cells in the draining LN (dLN), and interestingly, Syn4 KO mice showed the drastic hypoplasia of germinal center formation in the dLN. And the numbers of B cell subsets that involve in germinal center formation in the dLN, were also decreased in Syn4 KO mice. In addition, Syn4 KO mice showed reduced production of type-II collagen-specific IgG antibodies (total IgG, IgG2a and IgG2b) compared with WT mice.

Our results indicated that Syn4 on B cells possibly regulates the development of RA by modulating germinal center formation and antibody production.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学・リウマチ病学

キーワード：関節リウマチ・軟骨・骨

## 1. 研究開始当初の背景

## (1) RA の臨床的背景

従来、RA の特徴である進行性の関節炎・関節破壊に対する有効な治療法がなかったが、

TNF- $\alpha$  阻害薬・IL-6 受容体拮抗薬などの生物学的製剤の登場で、早期治療開始により関節炎・関節破壊の抑制が可能となった。しかし臨床においては、これらの薬剤が無効例の存

在や、感染症や間質性肺炎などの重篤な副作用、進行性の関節破壊を抑制できない、などが大きな問題である。また多くの新規生物学的製剤では、RA 性の骨破壊に対する治療や軟骨の修復は困難であり、今後は骨・軟骨破壊に有効な治療薬の開発が必須である。

(2) Syn4 と炎症疾患との関与

Syn4 は自身が持つへパラン硫酸鎖に様々な増殖因子、血液凝固阻止因子、細胞接着分子が結合し多彩な機能を営む。これまで、Syn4 KO マウスは、皮膚の修復能が減弱する、腎炎の程度がひどく死亡率が高い、エンドトキシンショックにかかりやすい、などが報告されており、Syn4 は傷害や感染に対する生体防御や炎症を抑制する働きを持つ可能性があると考えられた。

(3) Syn4 と RA との関与

- ①Syn4 が RA 患者の滑膜組織に高発現し、炎症性サイトカインの産生に関与していることが示唆されていた。
- ②Syn4 が Osteopontin を介した炎症を抑制することが知られている。
- ③CD4<sup>+</sup>T 細胞上の Syn4 が樹状細胞上の DC-HIL(dendritic cell-associated heparan sulfate proteoglycan-integrin ligand) と相互作用することで T 細胞応答を抑制することが知られている。
- ④B 細胞上のへパラン硫酸プロテオグリカンが B 細胞の増殖や生存を制御している可能性がある。

上記のことから Syn4 は RA 性の炎症性疾患に深く関わっていることが予想された。

2. 研究の目的

Syn4 KO マウスを用いて、関節リウマチの骨/軟骨破壊における Syn4 の関与を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) WT マウスと Syn4 KO マウスの RA モデルにおける臨床スコアと組織評価の比較。

- ①collagen-induced arthritis (CIA)
- ②collagen antibody-induced arthritis (CAIA)
- ③antigen-induced arthritis (AIA)

(2) Flow Cytometer による、所属リンパ節における免疫細胞上の Syn4 発現の評価。

(3) Flow Cytometer による、WT マウスと Syn4 KO マウスの所属リンパ節における CD4<sup>+</sup>T 細胞(Th1, Th17, Treg)、B 細胞亜群

数の比較。

(4) WT マウスと Syn4 KO マウスの所属リンパ節の組織学評価の比較。

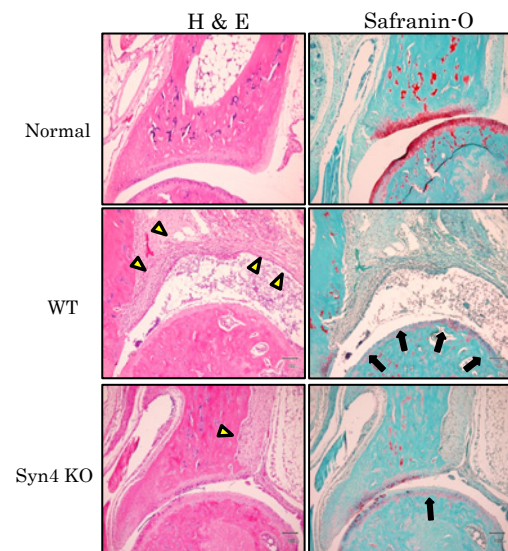
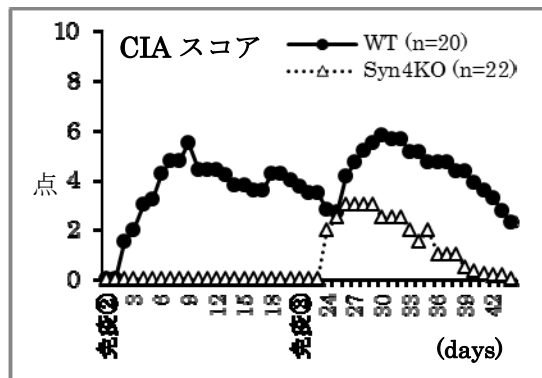
(5) ELISA による type-II collagen 特異的な血清抗体価の比較。

4. 研究成果

(1) 上記 3 つの RA model (CIA, CAIA, AIA) において、

①T 細胞および B 細胞依存型の CIA model において、Syn4 KO 群の関節炎スコア・発症率が有意に低下した(発症率 ; WT 群 (50%) : Syn4 KO 群 (9.1%)。)

②さらに T 細胞・B 細胞非依存型の CAIA model と T 細胞依存型の AIA model では、両群とも関節炎スコア・発症率に有意差を認めなかった。このことは、Syn4 が所属リンパ節における T 細胞-B 細胞の相互作用、もしくは B 細胞の機能に関与し、RA の病態を悪化させていることを強く示唆している。

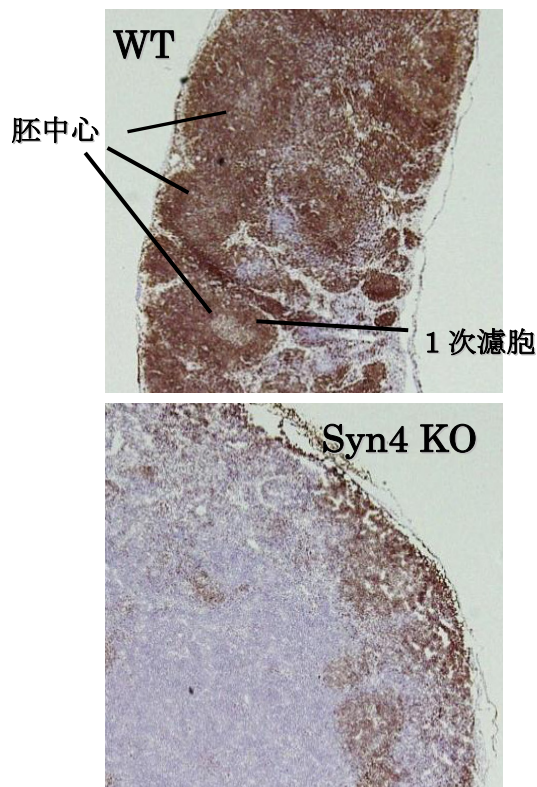


【CIA における関節病理組織所見】  
 矢頭 (黄色) ; 炎症細胞浸潤による骨破壊  
 矢印 (黒) ; 軟骨変性

(2) 所属リンパ節において Syn4 は B 細胞に高発現していた。また CD4<sup>+</sup> T 細胞の Th1, Th17 にもわずかに発現していた。

(3) CIA model において、Syn4 KO マウス群では type-II collagen を免疫後の所属リンパ節中の B 細胞亜群数 (total B cell, follicular B cell, germinal center B cell) が有意に低下していたが、CD4<sup>+</sup> T 細胞数には両マウス群で有意差を認めなかった。このことは、Syn4 が T 細胞増殖にはほとんど影響せず、B 細胞機能を制御している可能性を強く示唆した。

(4) CIA model における、Syn4 KO マウスの所属リンパ節に見られる胚中心構造が、Syn4 KO マウスの形成異常を示した。この胚中心構造は T 細胞-B 細胞が相互作用することで形成されることが知られており、B 細胞が抗体産生をする場として非常に重要である。この結果から、B 細胞上の Syn4 欠損が、所属リンパ節での T 細胞-B 細胞の相互作用における機能不全を誘導している可能性が示唆された。



【CIA における所属リンパ節の免疫染色】

(5) CIA model において、Syn4 KO マウスでは WT と比較して、IgM 抗体産生では有意差を認めなかったが、IgG サブクラス (total IgG, IgG2a, IgG2b) において、有意に産生低下を認めていた。

上記の結果から、Syn4 は B 細胞応答を制御し、胚中心形成さらには抗体産生を促進させることで、RA の病態進行に深く関わっている可能性があると考えられた。我々の研究は、Syn4 が RA の胚中心形成に強く関与している分子であることを初めて示したものである。

## 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)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 6 件)

- ① Tsutomu Endo, The role of syndecan-4 in the rheumatoid arthritis, Annual Meeting of The American Association of Immunologists transaction, 2013 年 5 月 3 日～7 日, Hawaii Convention Center, USA
- ② 遠藤努, 関節リウマチにおける Syndecan-4 の役割, 第 26 回日本軟骨代謝学会, 2013 年 3 月 1 日～2 日, 大阪千里ライフサイエンスセンター
- ③ 遠藤努, 関節リウマチにおける Syndecan-4 の役割, 第 41 回日本免疫学会学術集会, 2012 年 12 月 5 日～7 日, 神戸国際会議場
- ④ 遠藤努, 関節リウマチにおける Syndecan-4 の役割, 第 27 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2012 年 10 月 26 日～27 日, 名古屋国際会議場
- ⑤ Tsutomu Endo, The role of syndecan-4 in the rheumatoid arthritis, Annual Meeting of The American Association of Immunologists transactions, 2012 年 5 月 4 日～8 日, Hynes Convention Center, USA
- ⑥ 遠藤努, The role of Syndecan-4 in the development of rheumatoid arthritis. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 2011 年 11 月 27 日～29 日, 千葉幕張メッセ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 大介 (TAKAHASHI DAISUKE)  
北海道大学・北海道大学病院・助教  
研究者番号：90528845

(2) 研究分担者

岩崎 倫政 (IWASAKI NORIMASA)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：30322803

(3) 連携研究者

なし