

# 論 文 要 旨

Induction of autoimmune arthritis after direct injection of bone marrow cells from arthritis-prone SKG/Jcl mice into bone cavity of normal mice  
(骨髓内骨髓移植を用いた関節炎モデル・SKG/Jcl マウスの発症原因の検討)

関西医科大学整形外科学講座  
(指導：飯田寛和教授)

中村 知寿

はじめに

関節リウマチ (RA) は全世界人口の 0.5~1%が罹患する疾患である。にもかかわらず、RA の遺伝的、環境的原因についてはほとんど解明されていないが一卵性双生児の罹病一致率は 15~50%と報告されていることより、何らかの遺伝的要因があると考えられている。我々の教室では骨髄幹細胞異常が自己免疫疾患に関与していると考えており、今まで重症筋無力症、インスリン依存性糖尿病、慢性甲状腺炎、全身性エリテマトーデス、関節リウマチなどの疾患を骨髄移植にて予防、もしくは発症させる研究を行ってきた。今回の研究の目的は、関節リウマチモデルマウスの未成熟な骨髄細胞を移植することにより関節炎が惹起されるかを確認し、マウスにおける自己免疫性関節炎の原因が骨髄幹細胞に深く関与することを示すことである。

研究方法

8 週齢の B6 マウス (正常マウス) に 5.5Gy×2 回の放射線分割照射を行い、照射の翌日 SKG マウス (関節炎発症マウス) の全骨髄細胞 ( $3 \times 10^7$  個) または Linage negative の骨髄細胞 ( $1 \times 10^6$  個) を骨髄内骨髄移植 (IBM-BMT) した。介入群として、全骨髄細胞移植群 [Whole SKG→B6]、Linage negative の骨髄細胞移植群 [Lin<sup>-</sup> SKG→B6] の 2 群を、コントロールとして [untreated SKG]、[untreated B6] の 2 群、合計 4 群を作成した。評価項目は、マクロ所見、細胞表面マーカー、血清サイトカイン、病理組織にて行った。

結果

関節腫脹点数の経過は [Whole SKG→B6]、[Lin<sup>-</sup> SKG→B6]、[untreated SKG] において 12 週齢より関節腫脹が始まりその後徐々に進行し、24 週齢までにすべての個体で関節炎を発症した。それに対し、[untreated B6] では関節炎を発症した個体は認めなかった。H-2 タイピングは脾細胞、骨髄細胞において [Whole SKG→B6]、[Lin<sup>-</sup> SKG→B6] とともにレシピエントタイプ (B6) からドナータイプ (SKG) に置換されており、骨髄洗浄液から培養した間葉系由来の細胞 (Osteoblast like cell) においてもドナータイプに置換されており、全ての個体で造血系、間葉系ともに移植細胞が生着していることが確認できた。SKG マウスに特徴的な所見である胸腺細胞における CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>T 細胞の割合も [untreated SKG] と同様に高値であった。

足関節 HE 染色において [Whole SKG→B6]、[Lin<sup>-</sup> SKG→B6] でリンパ球浸潤を伴う滑膜増生を認め、[untreated SKG] と同様の所見であった。酒石酸耐性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色にて、[untreated B6] に比べ [Whole SKG→B6]、[Lin<sup>-</sup> SKG→B6]、[untreated SKG] では破骨細胞の増加を認めた。脾細胞、Osteoblast like cell における Anti receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand Ab (抗 RANKL

抗体)の発現は[untreated B6]に比べ[Whole SKG→B6]、[Lin<sup>-</sup> SKG→B6]、[untreated SKG]で有意に亢進しており、破骨細胞誘導が増加していることが確認できた。血清サイトカインは、TNF- $\alpha$ 、IL-6ともに[untreated B6]に比べ[Whole SKG→B6]、[Lin<sup>-</sup> SKG→B6]、[untreated SKG]において高値であった。

## 考察

RAの病態として炎症性サイトカインが関与しており、臨床使用されている薬剤において炎症性サイトカインを抑制する治療が主流である。しかしながら、RAを根治する方法は報告されておらず、RA患者は罹病後生涯にわたり副作用の多い免疫抑制剤または生物学的製剤を使用し続けなければならない。

今回の我々の研究において、マウスモデルではあるものの自己免疫性関節炎を惹起することができた。このことより、自己免疫性関節炎の原因は骨髄幹細胞が関与していると考えられる。以前に当教室が報告した関節炎予防と合わせるとIBM-BMTは自己免疫性関節炎の根治療法になりうると考えられ、薬剤の副作用のため、コントロールの出来ない患者や薬剤そのものの治療効果が乏しい患者にとって、有力な手技となる可能性がある。

一方、骨髄移植は現在白血病などの代替治療のない生命予後の悪い疾患に対して適応されるが、その原因として放射線照射における副作用と移植片対宿主病(GvHD)がある。IBM-BMTはGvHDの危険性を低減した上で移植の生着率が高い非常に優れた手技である。また現在IBM-BMTに様々な工夫を加えることによってGvHDを回避し、その結果放射線照射量を減少させる様々な取り組みが行われている。一例を挙げると、IBM-BMT時にドナー由来のリンパ球、もしくは胸腺細胞を同時に移植することにより、放射線照射量を減少してもGvHDが起こりにくかったと報告されている。今後、IBM-BMTを基幹とした安全な骨髄移植様式が確立されれば、自己免疫疾患の根治を安全かつ確実に行う事が出来ると考える。