

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 259 号	学位申請者	寶来 直人
審査委員	主査	谷本 昭英 教授	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	有馬 直道 教授	副査 古川 龍彦 教授
	副査	池田 龍二 准教授	副査 永井 拓 講師

主査および副査の5名は、平成25年9月6日、学位申請者 寶来 直人 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 筋萎縮は関節リウマチ(RA)の増悪の要因として考えられていたが、その逆もあるのでは。

(回答) 筋萎縮が RA の原因なのか結果なのかは本研究では明らかにならなかったため、今後の検討テーマとしたい。

質問2) CIA は RA に近似のモデルとのことだが、サルで抗 CCP 抗体を測定したのか。

(回答) サルでは抗 CCP 抗体の測定系は確立されておらず、本研究において測定実績はない。

質問3) RA のモデルとのことだが、9週以後も RA 症状は持続するのか。

(回答) 本モデルでは最長で3カ月は症状が継続することを確認している。

質問4) マウスでは RA が慢性に至らない理由は何か。

(回答) マウス全般すべての系統で寛解するというのではなく、施設、系統によっては不可逆的なモデルもある。

質問5) 論文の抜粋で RA と霊長類 CIA モデルの類似点を示していたが、両者で共通した特徴として挙げられていた Shared epitope の意味は何か。

(回答) 2型コラーゲンの抗原性が交差反応を示すと解釈している。

質問6) どの程度の領域の大腿四頭筋で病理組織学的変化が見られるのか。

(回答) 骨格筋の病理標本としては1~1.5cm 四方程度の領域をみており、標本全体において病理組織学的変化がみられている。

質問7) CPK と関節炎スコアとの相関グラフはどの時点の値を用いているのか。免疫初期の CPK 高値時に限定すべきではないか。

(回答) 全時点のデータで相関解析を行った結果を示した。各時点ごとの相関解析も行ったが、良好な相関はみられなかった。

質問8) ピモニダゾールの染色性は骨格筋の低酸素状態の指標か。低酸素状態になる原因は何か。

(回答) I型及びII型筋繊維の分布を反映すると考察している。低酸素の原因について文献的には、関節炎において炎症細胞の急激な増加や炎症による末梢の血行障害などが低酸素に関与すると考えられている。

質問9) ピモニダゾールは正常の骨格筋でも染色されるのか。正常でも低酸素状態は存在するのか。

(回答) 正常状態でも染色される骨格筋と染まらない骨格筋がある。

質問10) 低酸素で障害を受けやすい骨格筋が損傷して減少するのか。

(回答) 低酸素に弱い骨格筋の方がより障害を受けやすいとも考えられるし、適応しているとも考えられる。

質問11) C/EBP と Cortisol の関係はどう考えるのか。

(回答) Cortisol が上がったため、C/EBP が活性化した。C/EBP の下流に位置する NF- $\kappa$ B や NFIL6 などが活性化し

慢性の炎症につながったと考えられる。

質問 1 2) プリスタン関節炎、アジュバント関節炎、サル関節炎モデル作成にコラーゲンをを用いた理由は。

(回答) 霊長類では CIA が一般的に使用されてきたという歴史的背景がある。また、げっ歯類のようにアジュバントのみでの関節炎の誘導も試みた実績はあるが、抗原を含まない高度の炎症だけでは病態は誘導されなかった。

質問 1 3) ピモニダゾールで酸素分圧は判るのか。

(回答) 種々の論文を探してみたが、ピモニダゾールによって染色される酸素分圧と染色されない酸素分圧について具体的な基準を論じた報告をみつけることはできなかった。

質問 1 4) サル CIA で筋肉ミトコンドリア (Mt) が増加したとのことだが、RA 患者の筋肉でも Mt は増加するのか。

(回答) RA 患者で電顕及び光顕による観察により萎縮性など同様の所見が確認されている。

質問 1 5) ヒト RA では骨格筋へはどのような治療が望ましいか。

(回答) 骨格筋を減らさない、有酸素運動で骨格筋量を増やすことで関節腫脹/機能を改善することが可能になるのではないかと考えられる。またステロイドの使用方法についても注意が必要であることも考えられる。

質問 1 6) Cortisol の 2 週と 5 週の間、二峰間の谷は急性期から慢性期への移行だろうが、何が生じているのか。

(回答) 2 回の免疫によって二峰性のコルチゾルのピークがみられる。コラーゲン抗体価は抗 IgM が初期に一過性に増加し、その後抗 IgG 抗体は 2 回の免疫とあわせて増加がみられ、その後も病態とあわせて増加が維持される。

質問 1 7) TNF 以外のサイトカインの変動はあるのか。

(回答) IL-2、4、5、6、TNF、IFN- $\gamma$  を同時に測定したが、IL-6 以外に明らかな変化はみられなかった。

質問 1 8) 関節炎スコアの上昇時にサルの動きが鈍くなるなどの一般状態の変化はあるのか。

(回答) 腫脹が重篤化し、さらに肘、肩、膝、股関節などの大関節を含めて腫脹、固縮が全身性に及んでくると動けなくなり、寝たきりになる。

質問 1 9) 痛みは改善するのか。

(回答) カニクイザルを用いて痛みの評価は困難であり、関節痛の評価については今後の検討課題である。

質問 2 0) 関節炎の関節部位に炎症性細胞浸潤はあるのか。

(回答) 関節において炎症細胞浸潤はみられ、免疫染色でも種々のリンパ球が確認されるが、形質細胞などリンパ球サブセット解析は十分な検討がされていない。しかしながら、過去の実績において Rituximab (抗 B 細胞抗体) が本モデルで抗腫脹効果を示したことから、形質細胞との何らかの関与は推定される。

質問 2 1) 骨格筋にも炎症細胞浸潤はあるのか。

(回答) 膜抗原の免疫染色などによる白血球の詳細なタイピングは行っていないが、炎症細胞はみられている。

質問 2 2) 骨格筋の所見は筋炎とみることはできないか。

(回答) 筋炎とみることもできる。

質問 2 3) RA 発生と骨格筋の変化はどちらが先に生ずるのかを考えるのではなく、このモデルはリウマチと皮膚筋炎を併発していると考えられることはできないのか。

(回答) リウマチと皮膚筋炎を併発している可能性は否定できない。

質問 2 4) サルの皮膚に病理組織学的変化はないのか。

(回答) 皮膚の病理組織では、明らかな変化はみられていない。しかし、免疫源が II 型コラーゲンという高分子であることを考えると、皮膚にも分布する I 型コラーゲンに反応する抗体が誘導されている可能性は否定できず、本モデルにおける皮膚の変化は今後詳細に検討する。

質問 2 5) 体重減少とピルビン酸キナーゼなどの糖代謝系 (嫌氣的な glycolysis) の関係は未検討か。

(回答) 糖・エネルギー代謝酵素についてはこのモデルでは評価していないため、今後の検討テーマとしたい。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士 (医学) の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。