

(45)

氏名(生年月日) 中島亜矢子

本籍

学位の種類

学位授与の番号

学位授与の日付

学位授与の要件

学位論文題目

博士(医学)

乙第1670号

平成8年10月18日

学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)

Divergent effects of methotrexate on the clonal growth of T and B lymphocytes and synovial adherent cells from patients with rheumatoid arthritis

(メソトレキセートの抗リウマチ作用発現機序に関する検討—T, Bリンパ球および滑膜付着細胞のクローナルな増殖に対する影響)

(主査)教授内山竹彦

(副査)教授笠島武, 小柳仁

論文内容の要旨

〔目的〕

葉酸代謝拮抗剤であるメソトレキセート(MTX)の少量パルス療法は慢性関節リウマチ(RA)に対する最も有効な治療法であると認識されているが、RAにおける作用発現機序に関しては現在のところ不明である。本研究ではMTXの抗リウマチ作用のメカニズムを明らかにするため、RAの炎症病態に関与すると考えられるT細胞、B細胞、滑膜付着細胞に対するMTXの増殖抑制効果をクローニングの手法を用いて検討した。

〔対象および方法〕

比重遠心法より分離した末梢血単核球、DNaseとcollagenaseで処理したRA関節滑膜の単細胞浮遊液を実験に用いた。T細胞のクローニングは、PHA刺激とIL-2による長期培養法を用い、B細胞のクローニングは、EBウイルスによるトランスフォーメーションを用いて行った。滑膜付着細胞のクローニングは、関節滑膜の単細胞浮遊液を96穴マイクロプレートに限界希釈法で分注し、無刺激下の培養を行った。さらに、ヒト線維肉腫細胞株HT1080、HT1080を6-チオグアニン存在下に培養することにより得られたプリンサルベージ酵素(HPRT)欠損細胞株HT1080TG、健常人皮膚由来線維芽細胞株(SF-TY)、およびHPRT欠損症であるLesch-Nyhan症候群患者皮膚由来線維芽細

胞株(MiTEN)もクローニングし実験に用いた。これらの培養系に種々の濃度のMTXを添加し、MTXの細胞増殖抑制効果を検討した。

〔結果〕

1. MTXは、低濃度($0.1\mu M$ 以下)で末梢血およびRA関節滑膜由来のT細胞およびB細胞のクローナルな増殖を完全に抑制した。

2. 滑膜付着細胞のクローナルな増殖は、低濃度MTX($0.1\mu M$)では抑制されず、 $1.0\mu M$ 以上のMTXに対しても抵抗性を示した。

3. HT1080はクローニングにより増殖速度の速いlarge colonyおよび増殖速度の遅いsmall colonyに分離された。低濃度のMTXを添加することによりlarge colonyの出現は完全に抑制されたが、small colonyは高濃度のMTXに対しても抵抗性であった。

4. HPRTを欠損した変異株HT1080TGでは、large colony, small colonyとも低濃度のMTXで増殖抑制された。

5. SF-TYはMTXに抵抗性を示したが、MiTenは低濃度のMTXにより増殖抑制された。

〔考察〕

MTXは低濃度で末梢血およびRA関節滑膜由来のT細胞およびB細胞の増殖を完全に抑制したが、滑膜付着細胞の増殖はMTXに抵抗性を示したことから、

MTX の抗リウマチ効果は T および B 細胞の増殖抑制を介することが示唆された。HT1080における結果から、MTX に対する感受性は細胞の増殖速度に依存していると考えられた。したがって、滑膜付着細胞も増殖速度が遅いため MTX に対し抵抗性を示したものと考えられた。HT1080G では、増殖速度の遅い細胞群も MTX に対し感受性を示した。以上のことより、増殖の遅い細胞では、MTX により de novo 合成が抑

制されてもサルベージ経路を利用したヌクレオチド合成のみで細胞増殖が維持されるために、MTX に対し抵抗性となっており、滑膜付着細胞の増殖も同様の機序で MTX に抵抗性を示したものと考えられた。

〔結論〕

MTX の抗リウマチ効果は T 細胞および B 細胞の増殖抑制を介することが示唆された。

論文審査の要旨

本論文 (Divergent effects of methotrexate on the clonal growth of T and B lymphocytes and synovial adherent cells from patients with rheumatoid arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases 55 : 237, 1996) で、著者らは各種細胞株を用いてメソトレキセート (MTX) の抗リウマチ作用を解析した。

実験結果では、MTX の抗リウマチ効果は T 細胞および B 細胞の増殖抑制を介して誘導され、関節滑膜細胞には MTX の効果がないことが示された。滑膜細胞の MTX 抵抗性はサルベージ経路を利用したヌクレオチド合成が可能なためであると考えられた。本研究はリウマチの治療を考える上で価値ある論文と認める。

主論文公表誌

Divergent effects of methotrexate on the clonal growth of T and B lymphocytes and synovial adherent cells from patients with rheumatoid arthritis (メソトレキセートの抗リウマチ作用発現機序に関する検討—T, B リンパ球および滑膜付着細胞のクローナルな増殖に対する影響)

Annals of the Rheumatic Diseases Vol 55 No 4, 237-242頁 (1996年4月発行) Ayako Nakajima, Masayuki Hakoda, Hisashi Yamanaka, Naoyuki Kamatani, Sadao Kashiwazaki

副論文公表誌

- 1) ブシラミンの腎毒性. 炎症 11(1) : 49-52(1991)

中島亜矢子, 蓮沼智子, 山田 隆, 後藤 真, 西岡久寿樹

- 2) 結節性紅斑を伴った大動脈炎症候群の1例. 臨免疫 15(4) : 414-419 (1992) 中島亜矢子, 山下浩子, 藤波睦代, 佐藤和人, 柏崎禎夫
- 3) 抗リウマチ剤 bucillamine の尿中代謝物と有効性. 炎症 13(2) : 163-167 (1993) 中島亜矢子, 山中 寿, 柏崎禎夫
- 4) 壊死性血管炎による胆嚢炎を発症したシェーグレン症候群—全身性エリテマトーデス重複症候群の1症例. リウマチ 35(6) : 904-909 (1995) 謙詔昭, 濱 信昭, 川合真一, 石山香恵, 田辺 学, 山田 隆, 後藤 真, 中島亜矢子, 柏崎禎夫, 稲田進一