

Title	Expression of Granzyme B in Human Articular Chondrocytes
Sub Title	関節軟骨細胞におけるGranzyme Bの発現
Author	堀内, 極
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.26-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031202-0026

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Expression of Granzyme B in Human Articular Chondrocytes.

(関節軟骨細胞におけるGranzyme Bの発現)

堀 内 極

内容の要旨

Granzyme Bはセリン系プロテアーゼであり、血球系細胞であるナチュラルキラー細胞と細胞障害性T細胞にのみ発現すると報告されてきた。これらの細胞が、腫瘍細胞やウイルス感染細胞などの標的細胞にアポトーシスを誘導する過程でGranzyme Bは重要な役割を演じる。一方、Granzyme Bは軟骨基質を構成するプロテオグリカンを分解する活性を持つ。そのため関節リウマチ (RA) において、関節液中や軟骨・パンヌス境界部に高濃度で存在するGranzyme Bは、関節軟骨を表面から分解することに関与する。しかしながらGranzyme Bと軟骨細胞の関係についての詳細な報告はない。そこで本研究では、軟骨細胞においてGranzyme Bが発現するという仮説を立て、そのin vivoにおける機能を検討した。またGranzyme Bとともにアポトーシス誘導に関与するPerforinについても検討を加えた。

まず免疫組織化学染色を12例のRA軟骨組織と9例の正常軟骨組織に対して行った。その結果、Granzyme B陽性細胞はRA軟骨、正常軟骨とも全例で観察され、特にRA軟骨組織では浅層により多く存在した。またin-situ hybridization、RT-PCRにより軟骨細胞にGranzyme BのmRNAが発現していることが示された。Perforinも免疫組織化学染色を行ったRA軟骨の12例、正常軟骨の9例中8例で軟骨細胞に発現していた。半定量的PCRの結果、RA軟骨細胞は正常軟骨細胞に比較して、Granzyme BとPerforin mRNAの発現が亢進していることが示された。さらにTUNEL染色とHE染色により軟骨組織中のアポトーシス軟骨細胞を検索した。アポトーシス軟骨細胞は、RA軟骨では軟骨細胞のクラスター、正常軟骨では表層で主に存在した。アポトーシス軟骨細胞の存在は電子顕微鏡により形態学的に確認した。Granzyme BとTUNELの二重染色では、軟骨細胞のクラスター内部でGranzyme BとTUNELが同時に陽性の細胞が、Granzyme Bのみ陽性細胞に接して存在する傾向が認められた。

これらの結果から、従来、血球系免疫細胞にのみ発現すると考えられていたGranzyme BおよびPerforinは関節軟骨細胞にも発現しており、とくにRA軟骨では、その発現が亢進していた。正常軟骨細胞に発現したGranzyme Bは、そのプロテオグリカン分解活性により軟骨基質のリモデリングに関与する可能性が推測された。RA軟骨細胞に過剰に発現したGranzyme Bは、酵素的に、あるいは近傍の軟骨細胞のアポトーシスを誘導することで、軟骨基質の破壊に関与している可能性が示された。

論文審査の要旨

Granzyme Bは血球系細胞であるナチュラルキラー細胞と細胞障害性T細胞にのみ発現するとされ、これらの細胞が標的細胞にアポトーシスを誘導する過程で重要な役割を演じる。また、そのプロテオグリカン分解活性により、関節内に存在するナチュラルキラー細胞から産生されたGranzyme Bは、関節リウマチ (RA) の関節軟骨表層を酵素的に破壊するとされている。しかし血球系細胞以外でGranzyme Bの発現と機能に関する報告はほとんどなく、Granzyme Bと軟骨細胞の関係も明らかではない。そこで本研究では、関節軟骨細胞にGranzyme Bが発現するという仮説を立て、そのin vivoにおける機能を検討した。その結果、Granzyme Bは正常軟骨細胞、RA軟骨細胞の一部に発現しており、RA軟骨細胞では発現が亢進していることが示された。また、Granzyme Bを発現している軟骨細胞がクラスター内部で、隣接する軟骨細胞にアポトーシスを誘導している可能性が示された。

審査では、まずRA症例でステロイド使用群と非使用群ではGranzyme Bの発現率に有意差が存在するかについて質問された。これに対して、本研究では症例数が少なく検討は行われていないが、Granzyme Bによる関節軟骨破壊の研究において検討すべき重要な点であり今後研究を進めていきたいと回答された。次に、軟骨細胞に発現したGranzyme Bが異なった機能を発現するメカニズムについての質問に対して、生理的環境下では軟骨基質のリモデリングに関与し、RAでは過剰に発現したGranzyme Bが産生細胞周囲の軟骨基質を酵素的に破壊することに加えて、近傍の軟骨細胞へアポトーシスを誘導することを通して軟骨組織破壊に関与している可能性があることと回答された。また、正常軟骨をHE染色のみにより判定していることに対して、軟骨基質中に存在するプロテオグリカンの状態を確認する実験の必要性が指摘された。さらにGranzyme Bが産生細胞にアポトーシス誘導を行わないメカニズムについて質問された。これに対して、軟骨細胞に関しては不明であるが、ナチュラルキラー細胞で産生されたGranzyme Bは細胞内では不活性型であり、細胞外に放出されて活性型となることから、軟骨細胞についても同様のメカニズムの可能性があると回答された。次にGranzyme B陽性細胞の発現率に関しての計測法について質問され、軟骨組織を浅層と深層に二分し、それぞれ3視野における発現細胞数を平均したものを発現率とした、と回答された。

以上のように、本研究は今後さらに検討すべき課題を残してはいるが、従来はナチュラルキラー細胞と細胞障害性T細胞にのみ発現するとされてきたGranzyme Bが関節軟骨細胞にも発現することを証明した点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭

病理学 岡田 保典 発生・分化生物学 須田 年生

リハビリテーション医学 千野 直一

学力確認担当者：北島 政樹、岡田 保典

審査委員長：岡田 保典

試問日：平成15年10月6日