慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Expression of ADAM 15 in rheumatoid synovium: up-regulation by vascular endothelial growth factor and possible implications for angiogenesis
Sub Title	関節リウマチ滑膜におけるADAMI5の発現: 血管内皮細胞成長因子による発現亢進と血管新生への関与について
Author	小宮, 浩一郎
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.1 (2006. 3) ,p.18-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060302-0018

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 ADAM 15 in rheumatoid synovium: up-regulation by vascular endothelial growth factor and possible implications for angiogenesis

（関節リウマチ滑膜におけるADAM15の発現：
血管内皮細胞成長因子による発現亢進と血管新生への関与について）

小　宮　　浩　一　郎

内容の要旨

関節リウマチ（RA）の特徴は表層細胞層の多層化、炎症細胞の浸潤や豊富な血管新生を伴う慢性増殖性滑膜炎で、増殖滑膜では一群のmatrix metalloproteinase（MMP）が発現され関節軟骨破壊に関与することが知られている。一方、a disintegrin and metalloproteinase（ADAM）は近年注目されているMMP近縁遺伝子ファミリーであるが、関節疾患におけるADAMの発現情報は断片的で、制御機構についても不明な点が多い。本研究ではRAおよび変形性関節症（OA）滑膜組織を用いてADAMの発現スクリーニングを行うことと、RA滑膜組織におけるADAM15の発現と制御機構の解明を目的に以下の実験を行った。

人工膝関節置換術時に採取したRAおよびOA患者の滑膜組織を用いてプロテナーゼ型と考えられる10種のADAMについてRT-PCRで発現スクリーニングを行った。ADAM15の発現解析はRT-PCR、real-time PCR、*in situ* hybridization、immunohistochemistryおよびimmunoblottingで行った。滑膜組織の血管密度（vessels/mm^2）はCD31陽性血管数から算出した。発現制御解析ではRA滑膜細胞（RA synovial fibroblasts；RA SF）とヒト臍帯静脈血管内皮細胞（human umbilical vein endothelial cells；HUVEC）を用いて刺激実験を行った。

スクリーニングの結果、RA選択的かつ全例で発現が認められたADAM15に注目した。ADAM15の発現率はRAで100%、OAで60%であり、相対的発現量もRAはOAの3.8倍と有意に亢進していた。ADAM15は滑膜表層細胞および表層下の血管内皮細胞、マクロファージ様細胞に局在し、血管密度と相対的発現量との間には正の相関が認められた。またimmunoblottingでは前駆体や活性型と考えられる種々のバンドが検出された。RA SFおよびHUVECをvascular endothelial growth factor（VEGF)$_{165}$で刺激するとHUVECでのみADAM15の発現量が増加した。この反応の相違はVEGF受容体の有無によると推察されたのでRA SFをTNF-αで刺激するとVEGFR-2の発現が誘導され、さらにVEGF$_{165}$で連続刺激を行うとADAM15の発現量が増加した。TNF-αやVEGF$_{165}$はRA滑液中に多量に含まれており、VEGFR-2を介しVEGF$_{165}$により滑膜表層細胞や血管内皮細胞で発現が亢進したADAM15はRA増殖滑膜の血管新生、炎症維持に重要な役割を演じていると考えられ、将来的にRAの治療標的の１つになりうる可能性が示唆された。

論文審査の要旨

A Disintegrin and Metalloproteinase（ADAM）はMMP近縁遺伝子ファミリーであるが、関節疾患におけるADAMの発現情報は断片的で、制御機構についても不明な点が多い。そこで本研究では、関節リウマチ（RA）および変形性関節症（OA）滑膜組織を用いてADAMの発現スクリーニングを行い、続いてRA滑膜組織におけるADAM15の発現と制御機構の解析を行った。RT-PCRによる発現スクリーニングの結果、プロテアーゼ型と考えられる10種のADAMのうちRA選択的かつ全例で発現が認められたADAM15に注目した。ADAM15 mRNAの発現率はRAで100%、OAで60%であり、相対的発現量もRAはOAの3.8倍と有意に亢進していた。ADAM15は滑膜表層細胞および表層下の血管内皮細胞、マクロファージ様細胞に局在し、滑膜組織血管密度と相対的発現量との間に正の相関が認められた。またimmunoblottingでは前駆体や活性型と考えられる種々のバンドが検出された。RA 滑膜細胞（SF）およびヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）をvascular endothelial growth factor（VEGF)$_{165}$で刺激するとHUVECでのみADAM15の発現量が増加した。この反応の相違はVEGF受容体の有無によると推察されたので RA SFをTNF-αで刺激するとVEGFR-2の発現が誘導され、さらにVEGF$_{165}$で連続刺激を行うとADAM15の発現量が増加した。

審査では、まずRA滑膜とOA滑膜の違いについての質問がなされた。RA滑膜の病理組織学的特徴は滑膜表層細胞の重層化、細胞浸潤および豊富な血管新生であるが、OA滑膜も炎症が強くなれば同様の所見を呈しうることから、両者を明確に分けるのは難しいと回答された。また、ADAM15の分解基質およびRA滑膜組織中での活性の有無についての質問がなされ、分解基質としてIV型コラーゲンとゼラチンがあるが関節軟骨の主要基質であるII型コラーゲンやアグリカンの分解活性の有無は不明なこと、immunoblottingの結果からはRA滑膜組織中に活性型が含まれると考えられるが実際の活性の有無については検証していないと回答された。さらに培養細胞を用いた刺激実験で、OA SFでもRA SF同様の反応を呈するのか質問がなされ、OA SFでも同様の結果が再現されることがあると回答された。

以上のように、本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、RA滑膜においてVEGFR-2を介しVEGF$_{165}$により滑膜表層細胞や血管内皮細胞で発現が亢進したADAM15はRA増殖滑膜の血管新生、炎症維持に重要な役割を演じていると考えられ、将来的にRAの治療標的の１つになりうる可能性を示唆した点で有意義であると評価された。

論文審査担当者　主査　整形外科学　戸山　芳昭
　　内科学　池田　康夫　　医化学　末松　　誠
発生・分化生物学　須田　年生
学力確認担当者：北島　政樹、池田　康夫
　　審査委員長：池田　康夫

試問日：平成17年11月30日