氏名・(本籍)	大　村　喜久雄 (滋賀県)
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士第272号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成10年3月24日
学位論文題目	*Prolonged and increasing expression of Fos-related antigens in the hippocampus of adjuvant arthritic rats* (関節炎ラットの海馬におけるFos関連因子の発現形式)
審査委員	主査　教授　加　藤　進　昌 副査　教授　前　田　敏　博 副査　教授　福　田　眞　輔

論文内容の要旨

【目　的】

慢性関節リウマチ (RA) 患者の気質異常に関する疫学的報告は多いが原因となる脳の形態学的研究は少ない。そこで今回、慢性関節炎が脳に及ぼす影響を形態学的に観察し因果関係について考察した。

【方　法】

慢性関節炎モデルとしてアジュバント関節炎ラット (AR) を用いた。ARは6週齢、雄Lewisラットの尾根部にMycobacterium butyricum 0.6mgを含むフロイントの完全アジュバント (FCA) 0.05mlを皮下投与して作製した。FCA接種後2日、4日、6日、2週、4週、8週、12週、18週に各2匹ずつ麻酔下に生理食塩水による灌流、脱血の後、4%FA液で灌流固定した。脳を摘出し同固定液にて後固定した後、辺縁系を中心に50μ厚の連続浮遊切片を作製した。脳神経細胞の興奮の指標としてAP-1転写因子であるFos及びFos-related antigens (FRAs) を免疫組織化学的手法を用いて染色した。海馬のCA1、CA2、CA3及び歯状回の陽性細胞数を光学顕微鏡にて測定し時間的経過を観察した。関節炎の強さは同時に採取した罹患足関節のHE染色で検討し、Fos,FRAsの時間的変化との対比検討を行った。更にAP－1転写因子により発現するとされるオピオイドペプチドの関連を調べるため並行してLeucine-enkephalin (Leu-enk) の発現を免疫組織化学的に検討した。対照として尾根部にパラフィンのみ0.05mlを皮下投与したラット (VR) と何も操作を加えない正常ラット (NCR) を用いた。

【結　果】

ARの足関節HE染色では1週間で炎症細胞が出現し2週間でピークに達し3週間では線維芽細胞の増生を認めた。海馬のFos陽性細胞の発現は各群共に認めなかった。一方FRAs陽性細胞はAR、VRともに早期より海馬の4領域すべてに発現していた。この発現はVRでは経過観察後期に全領域において減少していたがARではCA3、歯状回においては逆に増加していた。Leu-enk陽性細胞は早期よりAR、VRともに歯状回に発現していた。FRAsの発現形式と同様にARでは18週でも発現が持続しているのに対しVRでは急速に発現が減少していた。NCRでは観察期間中、Fos陽性細胞、FRAs陽性細胞、Leu-enk陽性細胞の発現はほとんど認められなかった。

【考　察】

c-fosに代表されるimmediate early genesは神経系におけるshort-termの刺激反応をさらにlong-termの細胞応答に転換する生物学的働きを担う遺伝子とされている。細胞レベルでの神経系の可塑性や変性のメカニズムに関与しているとされるためこれらの遺伝子や蛋白のマッピングは神経細胞への刺激の指標とされている。さらに近年AP-1転写因子のなかでも発現時間や発現部位に差があり種々の刺激に対しての相互間での調節機能が考えられている。今回用いたFosとFRAsは各種の刺激に反応して発現するため麻酔や注射の操作による影響を除外せねばならない。今回の実

験での条件下では、どのグループにもFos蛋白の発現は認めなかった。Fos蛋白の産生は刺激により増加した後に急速に抑制されることが知られている。脳内では刺激に対し即座に反応し遺伝子発現の調節をおこなった後、Fos蛋白産生は急速に抑制されたのかもしれない。最も特記すべき事は関節炎の後期にCA 3 と歯状回においてFRAs陽性細胞の増加を認めたことである。FRAsは比較的長期にわたり発現することが知られているがその遺伝子発現のメカニズムや意義については不明である。今回の実験で観察された炎症後期でのFRAsの上昇は脳内での種々の刺激が統合されFRAs発現の遷延化をきたしたと考察される。さらにFRAsの歯状回における局在はLeu-enkの局在と類似しており遷延化した神経細胞への刺激がLeu-enkの発現を惹起したのかもしれない。臨床的にはRA患者には精神的にうつ状態が多いという報告や精神的ストレスがRAを悪化させるという報告がある。以前よりRA患者の血液や関節液中のオピオイドペプチドが増加するという報告はあるがLeu-enkが関節炎ラットの脳内に認められたという今回の観察は慢性関節炎の中枢神経に及ぼす影響として注目に値する。今回の観察では感情や情動と強い関係があるとされている扁桃体など他の辺縁系には特定のFRAs発現形式は認めなかったがさらなる詳細な観察により他のtransmitterの発現を証明できるかもしれない。また海馬は記憶と強い関係があるといわれている。RAのように繰り返される疼痛にたいする適応はより高次の中枢機能を必要とすると考えられる。仮に記憶が疼痛にたいする適応に関与しているとすれば海馬での長期にわたるFRAs発現の持続は直接的にRA患者の精神的安定維持に関与をしているかもしれない。

【結　論】

長期間にわたる関節炎は海馬におけるFRAsの発現を遷延化させる。これはLeu-enk陽性細胞の発現形式と一致する。このことよりRA患者の脳内には長期にわたる遺伝子レベルでの変化がひきおこされている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

慢性関節炎ラットを作成し、Fos関連因子の脳内分布およびその消長を免疫組織化学的手法を用いて調べ、慢性刺激下での中枢神経系の応答をしらべた。

関節炎と関連した消長は海馬体にもっとも特徴的に認められ、なかでもCA 3 と歯状回には関節炎が鎮静化した後でもFos関連因子蛋白の発現が持続していた。このことより慢性関節炎という長期持続するストレスの対応に記憶などの高度な機能が関連している可能性があることが推察された。

オピオイド・ペプチドの一種であるleucine-enkephalinを免疫組織化学的手法を用いて調べたところ、その発現形式はFos関連因子のそれと類似していたので慢性関節炎刺激はこれらのペプチドを介して精神状態に影響を与えている可能性が示唆された。

今回の結果は慢性関節リウマチ患者の抑うつ的精神状態を解明する手がかりを与えるものである。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成10年２月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。