

## 論文の内容の要旨

## The role of CTRP family in the development of autoimmune arthritis in mice

(関節リウマチ発症における CTRP ファミリーの役割の解析)

村山 正承

関節リウマチ (Rheumatoid Arthritis ; RA) は関節の変形や骨破壊を主徴とする自己免疫疾患である。RA の発症には遺伝的要因やウイルス、細菌、真菌などの感染といった環境的要因などが複雑に関与する難病であり、根本的な治療法は未だ確立されていない。

これまで岩倉研究室では RA 様関節炎をはじめとする自己免疫疾患を自然発症する 2 種類の RA モデルマウスを作出している。発症原因の異なる両モデルマウスはサイトカイン依存性も異なるため、これらの比較解析は複雑な発症要因である RA の発症機構の解明に有用である。両モデルマウスを用いた網羅的遺伝子発現解析から、新たな疾患関連候補遺伝子として *Clqtnf6* (*Clq and tumor necrosis factor 6*) および *Clqtnf3* を抽出した。*Clqtnf* ファミリー遺伝子は自然免疫および獲得免疫に関与する補体 C1q に類似した CTRP ファミリーをコードするため、免疫応答の調節を担う因子であることが期待されていた。また近年、ヒトにおける一塩基多型の連鎖解析から RA や一型糖尿病への関与が報告されているが、その生理機能は不明であった。

本研究では、独自に樹立した *Clqtnf6* および *Clqtnf3* 欠損 (KO) マウスを用いて RA 発症における CTRP6 および CTRP3 の役割について検討した。また、CTRP6 による関節炎発症に対する予防効果および治療効果について検討した。

関節炎発症に対する CTRP6 の影響を検討するため実験モデルであるコラーゲン誘導関節炎 (Collagen-induced arthritis: CIA) に対する応答を観察した結果、野生型 (WT) マウスと比較して *Clqtnf6* KO マウスは重症度が有意に増悪化した。この結果から、CTRP6 は関節炎発症において抑制的に機能していることが明らかになった。初回免疫後、抗原である II 型コラーゲン (IIC) に対する T 細胞の増殖応答およびサイトカイン産生は正常だったが、*Clqtnf6* KO マウスは IIC 特異的抗体価および補体活性化産物である C3a、C5a が増加していた。そこで、通常飼育下のマウスの血清を用いて、補体活性化に対する CTRP6 の影響を検討した。補体活性化経路には古典経路 (classical pathway: CP)、レクチン経路 (lectin pathway: LP) および第二経路 (alternative pathway: AP) の 3 つの補体活性化経路があるが、CTRP6 の欠損により AP のみが過剰に活性化した。また、CTRP6 は用量依存的に AP 活性化を抑制した。これらの結果から、CTRP6 が新たな AP 特異的な補体制御因子であることを明らかにした。次に、CTRP6 による関節炎発症の予防効果を検討するため、*Clqtnf6* 過剰発現 (Tg) マウスを作製し CIA を実施した。その結果、*Clqtnf6* Tg

マウスは WT マウスと比較して有意に関節炎の重症度が軽度だった。また、CTRP6 による関節炎の治療効果を検討するため、関節炎感受性マウスである DBA/1J マウスに関節炎を誘導し、免疫後 28 日より CTRP6 (コントロール：PBS) を膝関節腔に毎日投与した。CTRP6 投与により関節炎の増悪化を抑制し、症状を減弱することができた。これらの結果から、CTRP6 は関節炎発症に対する予防効果および治療効果を持つことが明らかになった。

また、*Clqtnf6* KO マウスと同様に *Clqtnf3* KO マウスも CIA が増悪化したことから、CTRP3 も関節炎発症において抑制的に機能していることが明らかになった。しかし、CTRP3 は補体活性化には影響がなかったため、CTRP3 は補体制御因子ではないことが明らかになった。そして *Clqtnf3* KO マウスは IIC 特異的抗体価の増加や関節局所の炎症が亢進していたことから、生体内において炎症応答を抑制する機能を持つことが明らかになった。

本研究では、遺伝子改変マウスを用いた実験から CTRP6 が補体第二経路特異的な制御因子であり、関節炎発症において抑制的に機能することを明らかにした。また CTRP6 は関節炎発症において予防効果および治療効果を持つことから、ヒトの RA を含む自己免疫疾患に対する新たな治療薬となりうることを示した。また、CTRP3 は補体制御には関与しないが炎症応答を抑制することから、CTRP3 も自己免疫疾患発症に対する新たな治療薬となりうることを示した。