

IIA-21

GFP 骨髄キメラを用いた腱修復における未分化間葉系細胞の起源の解析

梶川佳照¹⁾, 坂本浩隆²⁾, 松田賢一²⁾, 渡邊信佳¹⁾, 大島康史¹⁾, 吉田敦彦¹⁾, 久保俊一¹⁾, 河田光博²⁾

京都府立医大大学院

¹⁾運動器機能再生外科学(整形外科),

²⁾生体構造科学

【目的】腱修復過程において間葉系細胞の関与が報告されている。しかし、間葉系細胞が損傷部周囲細胞と血中細胞のいずれに由来するかについては解明されていない。本研究では腱修復における血液由来細胞の動態を green fluorescent protein 遺伝子導入ラット(GFP ラット)を用いて作製した骨髄キメラにより追跡した。

【方法】Sprague Dawley (SD) ラット(n=20)および GFP ラット(n=20)を用いた。GFP ラットから全骨髄細胞を採取し、 2.4×10^8 骨髄細胞/ml に調節した。10Gy の γ 線照射を行った SD ラットに1体あたり 1.0×10^8 骨髄細胞を静脈内注射し移植を行い、骨髄キメラを作製した。移植後7日で右膝蓋腱に部分損傷を施し、左膝蓋腱は損傷を加えないコントロールとした。損傷後1, 3, 7日で膝蓋腱の連続凍結切片を作製し、HE染色による組織学的検討および共焦点レーザー顕微鏡を用いた GFP シグナルの観察を行った。また移植後3, 7日および損傷後3, 7日で FACS calibur を用いて骨髄キメラの末梢血と骨髄の GFP 陽性細胞キメラ率を測定した。

【結果】骨髄移植後7日で GFP 陽性細胞キメラ率は、骨髄が平均 24.5%, 末梢血が平均 22.0%であった。また、膝蓋腱内、周囲滑膜組織に GFP 陽性細胞を認めなかった。損傷作製後1日目の膝蓋腱の HE 染色像では損傷部に著明な血腫を認めた。3日目では、線維組織および線維芽細胞様細胞による修復を認め、7日目では、細胞密度が増加し、損傷部の境界は不明瞭となった。また、損傷作製後1日目で、血腫内に少数の GFP 陽性細胞を認め、その一部は線維芽細胞様細胞であった。膝蓋腱内には、損傷部近傍のみに GFP 陽性線維芽細胞様細胞を認めた。3日目では、損傷部および膝蓋腱全体に多数の GFP 陽性線維芽細胞様細胞を認め、7日目ではさらに増加していた。

【考察】骨髄キメラモデルは腱修復過程における血液由来細胞の動態追跡に有用であった。腱損傷早期に損傷部に形成された血腫内に線維芽細胞様細胞を認め、経時的に損傷部および膝蓋腱内に増加しており、修復過程で損傷部および膝蓋腱内に血液由来の GFP 陽性線維芽細胞様細胞を認めたことから、腱修復における血液由来間葉系細胞の関与が明らかになった。

【結論】腱修復には血液由来間葉系細胞が関与することが明らかになった。

IIA-22

慢性関節リウマチ滑膜における構成細胞の増殖性について

坂江 清弘¹⁾, 戸田 博之²⁾, 下村 志乃²⁾, 白濱 浩³⁾, 末吉 和宣⁴⁾, 米澤 傑⁵⁾

¹⁾鹿児島大学医学部保健学科 基礎理学療法学講座、

²⁾同大学院保健学研究科学生、³⁾今給黎総合病院病理、

⁴⁾鹿児島市立病院病理研究検査室、⁵⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 人体がん病理学

【目的】慢性関節リウマチ(RAと省略)滑膜病変は構成細胞である滑膜表層細胞、滑膜間質細胞およびリンパ球が病態の進展に関与していることから、構成細胞の増殖性について病理学的に検索した。

【対象・方法】対象は臨床的、病理学的に確定診断した手術症例21例で、リンパ球の集積が顕著な病変(リンパ球浸潤滑膜)10例、滑膜間質細胞の増殖が顕著な病変(パンヌス肉芽形成滑膜)6例、線維形成が顕著な病変(線維化癒痕滑膜)5例である。RA滑膜組織(ホルマリン固定・パラフィン包埋)を用いて免疫組織化学的検索を行った。細胞の増殖性の検索には抗PCNA(proliferation cell nuclear antigen)抗体および抗bcl2(抗アポトーシス遺伝子)抗体を用い、免疫染色によって細胞の陽性、陰性を判別し、強陽性の判定は陽性細胞数50%以上とした。

【結果】滑膜表層細胞は、PCNAが全例陽性で、うちリンパ球浸潤滑膜7例、パンヌス肉芽形成滑膜4例では強陽性であった。bcl2は全例陰性であった。滑膜間質細胞は、PCNAが全例陽性で、うちパンヌス肉芽形成滑膜では全て強陽性であった。bcl2も全例陽性であった。リンパ球は、PCNAは19例、bcl2は20例が陽性で、うちbcl2強陽性がリンパ球浸潤滑膜9例、パンヌス肉芽形成滑膜4例、線維化癒痕滑膜4例にみられ、多数を占めた。リンパ球浸潤滑膜2例にみられたリンパ球集簇の胚中心はPCNA強陽性、bcl2陽性で、その周囲リンパ球はPCNA陽性、bcl2強陽性であった。

【考察】PCNAは細胞の増殖能力に関わり、bcl2はアポトーシス抑制機構で細胞延命に関わる。今回の検索では、滑膜表層細胞はPCNA陽性となり増殖能を呈した。滑膜間質細胞とリンパ球はPCNA、bcl2共に陽性ないし強陽性となり増殖能と細胞延命を呈し、これは、滑膜間質細胞の場合はパンヌス肉芽形成滑膜で特に著明で、リンパ球では病変が線維化癒痕の時期になっても増殖能、延命性が証明された。これら構成細胞の持続的な増殖能と存続性がRA滑膜の病態の進行、持続性に大きく関与していることがわかった。