

## 論文審査の結果の要旨

### Suitable reference gene selection for gene expression studies in knee osteoarthritis synovium using quantitative PCR analysis

変形性膝関節症滑膜での定量的PCR法による遺伝子発現解析に  
最適な参照遺伝子の選定

日本医科大学大学院医学研究科 外科系整形外科学分野  
大学院生 渡部 寛

Connect Tissue Res. 2017 Nov 2: 1-13 掲載

滑膜は関節液を産生し関節内の恒常性維持を担う、重要な関節組織である。関節リウマチでは滑膜炎が主要な病態であるため、以前より様々な滑膜研究がなされてきているが、変形性関節症の病態においても軟骨と同等かそれ以上に滑膜が重要であることが知られつつある。一方で、遺伝子発現解析の一般的な手法である定量的PCR法では、最適な参照遺伝子の選定を行い定量補正することが必須であると近年知られつつあるが、滑膜での最適な参照遺伝子の報告はまだない。

学位申請者は、変形性膝関節症 (knee osteoarthritis, KOA) で人工関節置換術に至った患者の滑膜を用いて参照遺伝子の発現安定性の検定を行った。解析した結果、*HPRT1* が最も安定性が高く、*B2M* が逆に最も不安定な参照遺伝子だった。*HPRT1* を参照遺伝子として使用し、滑膜に発現しているステロイドホルモン受容体 (*ESR1*, *ESR2*, *AR*, *GR*, *MR*, *PR*) と炎症性サイトカイン (*IL1β*, *IL6*) について発現定量解析を行った。その結果、ステロイド受容体の発現は  $AR > GR > MR > PR > ESR1$  の順に高発現しており、*ESR2* は検出限界以下だった。またこれらの受容体はほぼ全てのペアで強い正の相関を示した。女性では *AR* と *PR* 発現が Body mass index と正の相関を示した。*IL1β* と *IL6* の発現は、ともに女性優位な高発現を示し、男性では *IL1β* と *IL6* の間に正の相関を認めた一方で、女性では統計的に有意な相関が認められなかった。さらに、女性でのみ *IL1β* と *ESR1* および *PR* が、*IL6* と *ESR1* および *GR* がそれぞれ逆相関を示した。

女性は男性よりも KOA に罹患しやすいことが知られているがその性差をもたらす原因は不明であった。本研究では、女性優位な *IL1β* および *IL6* の発現を見出しており、この結果は男性よりも女性で炎症傾向が強く関節破壊を来しやすい、という KOA の病態における性差を示唆している可能性がある。また、女性に限り *IL1β* と *IL6* がステロイドホルモン受容体と逆相関関係を持ちつつも *IL1β* と *IL6* の相関がみられなかったことから、女性の KOA の病態では男性とは異なり関節内の炎症機序にステロイドホルモンが影響し、病態とステロイドホルモンの関係がより複雑である可能性が考えられた。ステロイドホルモンによる炎症性サイトカインの発現調節経路はこれまで血球系を中心に報告されているが、滑膜ではこの調節機構が存在しているかは知られておらず、今回初めて女性の膝滑膜でもこれらの経路が機能していることが示唆された。

安定性の低い *B2M* を参照遺伝子として使用すると女性優位な *IL1β* および *IL6* 発現の性差が消失し、さらに、遺伝子発現の相関関係が大幅に変化することから、KOA 滑膜での遺伝子発現定量解析においても安定性が高い最適な参照遺伝子を選択する重要性が確認された研究であり、学位論文として価値あるものと判定した。