

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	西 谷 江 平
論文題目	PGE2 inhibits MMP expression by suppressing MKK4-JNK MAP kinase-c-JUN pathway via EP4 in human articular chondrocytes(プロスタグランディンE2はヒト関節軟骨細胞において、EP4を介しMKK4-JNK MAP キナーゼ-c-JUN経路を抑制することによりマトリックスメタロプロテアーゼの産生を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
変形性関節症（OA）の関節内において、IL-1β等の炎症性サイトカインの上昇がマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）を主とする軟骨分解酵素を誘導し、関節破壊が進むと考えられている。プロスタグランディン E2（PGE2）は一般に炎症促進性物質と認識されており、炎症を惹起し関節破壊に寄与すると認識されている。しかし非ステロイド系消炎鎮痛剤（NSAIDS）を長期間使用すると、OA の進行が助長されることが示されており、PGE2 を長期的に抑制することが、軟骨に対して悪影響を及ぼすのではないかと考えられる。一方、滑膜線維芽細胞において PGE2 は MMP の産生を抑制する。関節軟骨での PGE2 の MMP への作用は解明されていないが、関節軟骨細胞においても、PGE2 が MMP の産生を抑制し軟骨保護的な作用を有するのではないかという仮説の元に、PGE2 の MMP 産生に対する作用とその細胞内シグナル伝達を検討した。 方法として、OA 及び正常ヒト関節軟骨細胞を採取し、単層培養及び器官培養系において、IL-1βにより惹起された MMP 産生に対する PGE2 の抑制作用を検討した。培養液上清中への MMP の産生をウェスタンブロット法及び ELISA 法で、また器官培養軟骨での MMP 産生を免疫組織染色で確認した。PGE2 のレセプターに対する agonist、antagonist を用い、PGE2 の MMP 産生に対する作用がどの受容体を介したものであるかを検討した。また MMP 発現の主な細胞内シグナリング経路である MAP キナーゼと NF-κB について検討した。 OA、正常軟骨単層培養系において、PGE2 は 10nM$\sim$10μM で、IL-1βによる MMP1,13 の産生を抑制した。また器官培養系においても PGE2 1μM で IL-1βによる MMP1,13 の産生を抑制した。OA 軟骨細胞において、PGE2 受容体に対する選択的 agonist のうち、EP4 agonist が PGE2 の MMP 産生抑制作用を再現した。また、EP4 antagonist 投与により、PGE2 の MMP 産生抑制作用は打ち消された。細胞内シグナルについては、IL-1βは MAP キナーゼ JNK、ERK、p38、及び NF-κB のリン酸化を誘導したが、PGE2 はこのうち JNK、ERK のリン酸化を抑制した。siRNA を用いて選択的に JNK を knockdown すると、IL-1βによる MMP 産生が抑制されるが、ERK を knockdown しても MMP 産生には影響を与えなかった。JNK のシグナルの上流である MKK4 及び下流である c-JUN のリン酸化も PGE2 で抑制された。これらにより JNK のカスケードを抑制することが PGE2 の MMP 産生抑制作用の機序であることを示した。したがって、PGE2 は、関節軟骨細胞において EP4-JNK の経路を抑制することにより、MMP 産生を抑制することがわかった。 PGE2 が MMP 産生抑制作用を持つことから、OA において関節液中で上昇した PGE2 は軟骨保護的作用を持つと言える。OA 及び生理的状态における PGE2 を NSAIDS により長期的に抑制することは、関節軟骨に対して悪影響を及ぼす可能性がある。			

(論文審査の結果の要旨) 変形性関節症(OA)の関節内において炎症性サイトカインがMMP等の軟骨基質分解酵素を誘導し関節破壊が進むと考えられている。PGE2は炎症を惹起し関節破壊に寄与すると考えられているが、関節軟骨においてPGE2のMMP産生に対する作用は充分解明されていない。OA及び正常ヒト軟骨細胞及び組織を培養し、PGE2のMMP産生に対する効果及びメカニズムを検討した。PGE2はヒトOA、正常軟骨細胞単層培養系において、MMP1, 13の産生を惹起せず、逆にIL-1βにより惹起されたMMP1, 13の産生を抑制した。同様に軟骨組織器官培養系においても、PGE2はMMP1, 13の産生を亢進せず、IL-1βによるMMP1, 13の産生亢進を抑制した。この抑制効果はPGE2のレセプターのうちEP4を介する作用であった。細胞内シグナリングにおいては、PGE2はMAPキナーゼカスケードのうち、MKK4-JNK-c-JUNカスケードのシグナル伝達を抑制することでIL-1βによるMMP1, 13の産生亢進作用を抑制していた。PGE2がMMP産生抑制作用を持つことから、OAにおいて関節液中で上昇したPGE2は軟骨保護的作用を持つと言える。OA及び生理的状态においてPGE2を長期的に抑制することは、関節軟骨に対して悪影響を及ぼす可能性がある。以上の研究はPGE2の軟骨保護作用を示しその作用メカニズムの解明に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文としての価値あるものとみとめる。 なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 2 月 8 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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			