

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 壺阪 義記

関節リウマチとは関節内への炎症細胞の浸潤、滑膜細胞の増殖、骨軟骨の破壊を示す原因不明の自己免疫疾患である。関節リウマチの進行にはプロスタグランジン (PGs) の産生と活性が深く関わる。これまで、PGs の産生を阻害するシクロオキシゲナーゼ (COX) 阻害薬がリウマチ治療に有効であることや、主要な PGs である PGI₂ や PGE₂ がマウスのコラーゲン誘発性関節炎を増悪させることが報告されており、PGs はリウマチの増悪因子として認識されてきた。

プロスタグランジン D₂ (PGD₂) は COX と PGD₂ 合成酵素の活性により産生される PG の 1 つである。PGD₂ の炎症における生理作用に関して、①病態モデル②病態ステージ③ PGD₂ 産生細胞④産生量⑤受容体などの違いにより、抑制と促進の双方の報告が混在する。血清誘発性関節炎モデルマウスを用いた先行研究により、血清中の PGD₂ 量が正常マウスと比べて非常に高いことが報告されているが、PGD₂ が関節リウマチに対して与える影響についてはわかっていない。

そこで、本研究では (1) PGD₂ 合成酵素の 1 つである H-PGDS 由来の PGD₂ が関節炎に与える影響を検討すること (2) PGD₂ 受容体の 1 つである CRTH2 受容体シグナルが関節炎に与える影響を明らかにすることを目的とした。

(1) 野生型マウス (WT) の足関節周囲に完全フロイントアジュバント (CFA) を皮下注射すると、肢組織中の PGD₂ 含有量の増加や肢の腫大、足関節への炎症細胞の浸潤、骨軟骨の破壊が観察された。一方、H-PGDS 欠損マウス (H-PGDS^{-/-}) の肢では PGD₂ がほとんど検出されず、WT と比べて関節炎の症状が悪化した。

関節リウマチの進行には血管新生および血管透過性の亢進が重要である。H-PGDS^{-/-} では WT と比べて、処置後 9 日目の肢に存在する血管面積の割合の増加および血漿成分の血管外漏出の亢進が観察され、血管新生と血管透過性が亢進していた。また、PGD₂ 受容体の 1 つである DP 受容体の作動薬の処置は CFA 処置による血管透過性亢進を抑制し、逆に WT への DP 受容体阻害薬の処置はこの亢進をさらに増大させた。

処置後 5 日目の肢において、H-PGDS^{-/-} では WT と比べて、血管新生関連遺伝子である tumor necrosis factor- α (TNF- α) や interleukin-6 (IL-6)、IL-1 β 、matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) の mRNA 発現量が有意に上昇していた。

処置後 9 日目の WT の肢において、CD68 陽性マクロファージ (M ϕ) の一部が H-PGDS を強く発現していた。

(2) マウスの足関節周囲に CFA を皮下注射すると、CRTH2 欠損マウス (CRTH2^{-/-}) では

WT と比べて、肢の腫れや足関節への炎症細胞の浸潤、骨軟骨の破壊といった症状がより悪化した。

骨髄移植を行ったところ、WT の骨髄を CRTH2^{-/-}へ移植することで関節炎の症状が緩和し、逆に CRTH2^{-/-}の骨髄を WT へ移植することで関節炎の症状が悪化した。

処置後 3 日目の肢において、CRTH2^{-/-}では WT と比べて CD68 陽性 Mφ の浸潤数が増加していた。また、Mφ 不活性化剤 GdCl₃ および Mφ 除去剤 liposomal clodronate の処置は CRTH2^{-/-}で見られた関節炎の症状を改善した。さらに、CRTH2 を欠損させた骨髄由来 Mφ を追加した WT では、WT Mφ の追加移入と比べて腫れが悪化した。

また、CFA 刺激を行った CRTH2^{-/-}の腹腔から単離した Mφ では WT と比べて Mφ の分化に関わる granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) と遊走に関わる CXCR-2 の mRNA 発現量が有意に上昇していた。CRTH2 受容体作動薬の処置は CFA 刺激を行った WT の腹腔 Mφ におけるこれらの mRNA 発現量を抑制した。

以上の成績より、①H-PGDS 陽性 Mφ から産生される PGD₂ が炎症関節におけるサイトカイン産生や血管透過性亢進、それに続く血管新生を抑制し、症状を抑えること、②この現象には少なくとも一部、DP 受容体活性による血管透過性抑制作用が関与すること、③ CRTH2 受容体活性が Mφ の活性化を抑え、関節炎の症状を緩和させることが示された。これまで PGs は関節リウマチの増悪因子と考えられてきたが、PGD₂ は逆に関節炎を抑える PG であることを明らかにした。これらの成果が、リウマチ病態の発症・進展機構の全容解明と治療法の開発につながることを期待される。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位に値するものと判断した。