

## 審査の結果の要旨

氏名 三枝 正朋

本研究は骨代謝において重要な役割を果たしていることが以前より知られている prostaglandin E<sub>2</sub> の産生過程における最終段階で作用する酵素、prostaglandin E<sub>2</sub> synthase (PGES)の骨における発現及び役割について研究を行い、骨代謝疾患治療への可能性について検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 骨に発現するプロスタノイドによる破骨細胞形成と骨吸収をマウス骨芽細胞と骨髄細胞による共存培養下に調べたところ、PGE<sub>2</sub> は用量依存的に破骨細胞形成を起こしたが、他のプロスタノイド、PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub>はほとんど影響を及ぼさなかった。また、この共存培養により形成された破骨細胞を dentine slice 上に移しこれらのプロスタノイドとさらに培養したところ、PGE<sub>2</sub> のみが骨吸収窩形成能を示し、PGE<sub>2</sub> のみが破骨細胞性骨吸収を促すことが示された。
2. マウス骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 への IL-1α、TNF-α、FGF-2 などの骨吸収性サイトカイン刺激による membrane-associated PGES (mPGES)の RNA 発現を調べたところ、IL-1α、TNF-α、FGF-2 により mPGES が発現誘導された。
3. マウス初代骨芽細胞への IL-1α、TNF-α、FGF-2 による mPGES と cytosolic PGES (cPGES)の発現誘導を調べたところ、mPGES の mRNA とタンパクは発現誘導が見られたが、cPGES の mRNA とタンパクは恒常的に発現していた。
4. マウスに LPS を腹腔内注射し、脛骨と大腿骨を採取して骨髄と残りの骨に分離し、RT-PCR/サザンブロッティングにより観察を行ったところ、mPGES の mRNA は用量依存的に骨髄でも残りの骨でも発現誘導が見られた。一方、RT-PCR による cPGES の mRNA レベルは、骨髄でも残りの骨でも LPS 腹腔内注射により影響を受けなかった。
5. 骨吸収に対する mPGES の関与を調べるために、mPGES に対するチオリン酸化したアンチセンスオリゴヌクレオチド（以下アンチセンス）を合成して観察を行った。初代骨芽細胞に対する IL-1α刺激による PGE<sub>2</sub> レベルと RANKL の mRNA レベルへの影響を調べたところ、mPGES アンチセンスにより両者とも抑制された。一方、コントロールオリゴヌクレオチドは影響を及ぼさなかった。
6. 培養初代骨芽細胞にオリゴヌクレオチドを加え、その後骨髄細胞との共存培養を行い IL-1α、PGE<sub>2</sub> で刺激した。mPGES アンチセンスは IL-1αによる破骨細胞形成と骨吸収窩形成を抑制したが、コントロールオリゴヌクレオチドは影響を及ぼさなかった。一方、mPGES アンチセンスは外因性 PGE<sub>2</sub> による破骨細胞形成、骨吸

収窩形成は抑制しなかった。

以上、本論文は mPGES が PGE<sub>2</sub> 産生を伴うサイトカインによる骨吸収の重要なメディエーターであることを明らかにした。本研究は mPGES が骨吸収性病態において重要な役割を持っており、現在開発中である mPGES の抑制剤は骨代謝改善薬としての可能性が期待されることを示し、学位の授与に値するものと考えられる。