

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 山 川 聖 史

本研究は3種類同定されているプロスタグランジン E₂ 合成酵素(PGES)のうち、炎症等の刺激により誘導され、同様に誘導性の酵素である COX-2 と機能的に連関する膜結合型 PGES-1(mPGES-1)の生体内における骨代謝への関与を明らかにするため、大阪大学で作製され、供与された mPGES-1 ノックアウトマウス(KO)の骨組織に関する生理的状态および病的負荷モデルの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. mPGES-1 KO に成長障害はなく、8 週齢雄の骨格・大腿骨・脛骨・腰椎の X 線、骨密度 (BMD) においても WT と有意な差はなかった。脛骨近位での骨組織形態計測も行ったが、骨形成、骨吸収の指標とも WT と KO の間に有意な差はなかった。生理的状态では mPGES-1 KO には骨組織も含めて主要臓器に異常はみられなかった。
2. 炎症および炎症性骨吸収モデルとして II 型コラーゲン抗体投与による関節リウマチモデルを作成した。炎症の臨床評価としての関節炎スコアは、KO では WT の半分程度に抑制された。膝関節部の組織像では、WT でみられた関節軟骨の変性・破壊が KO では抑制され、膝関節周囲の BMD の減少率も KO は WT に比べて抑制されていた。また、中手骨部の X 線では WT で明らかだった骨破壊・骨膜反応が KO ではみられず、骨組織形態計測での骨吸収の指標が、WT の半分程度に減少していた。Day6 での両手足組織中の PGE₂ 産生量は WT で著明に亢進していたのに対し、KO では半分程度に抑制されていた。mPGES-1 蛋白の発現は、関節炎の発症に伴い COX-2 の発現亢進とともに誘導されていたが、mPGES-2 や cPGES の発現は不変であった。RANKL の mRNA 発現も発症に伴い WT で亢進していたが、KO では対照群と同程度に抑制されていた。mPGES-1 は関節炎モデルにおいて重要な役割を果たしていることが示された。
3. 閉経後骨粗鬆症モデルとして卵巣摘出モデルを作成した。術後 4 週で脛骨の BMD を術前と比較したところ、卵巣摘出に伴って BMD の減少がみられたが、その減少率に WT と KO で有意な差はなかった。
4. 不動性骨粗鬆症モデルとして尾部懸垂モデルを作成した。懸垂後 4 週で脛

骨の BMD を地上対照群と懸垂群の間で比較し、その BMD の減少率を WT と KO で比較したが、有意な差はみられなかった。脛骨の骨組織形態計測でも WT と KO の間には有意な差はなかった。

5. 骨折モデルとして脛骨骨折モデルを作成した。経時的に WT 骨折部での 3 種類の PGES の mRNA 発現を調べたところ、mPGES-1 のみが術後 1 週をピークに 2 倍以上に発現が亢進した。術後 1 週の組織切片での mPGES-1 蛋白の発現は骨折部の軟骨組織および骨膜近傍の線維性骨にみられた。X 線および組織切片上、1 週から 2 週後にかけて軟骨組織を主とした旺盛な仮骨の形成がみられ、3 週後には全例骨癒合した WT に比べ、KO マウスは仮骨形成に乏しく、10 匹中の半分が術後 3 週でも骨癒合していなかった。骨密度測定器を用いて仮骨面積と仮骨骨量を定量化したところ、WT に比べて KO では半分程度に低下していた。仮骨部軟骨組織細胞の性質を免疫染色を用いて検討したところ、細胞増殖を示す BrdU 陽性細胞の数が KO では WT に比較し減少していた。肥大化軟骨細胞を示す X 型コラーゲンとアポトーシスを示す TUNEL 染色では、KO でその陽性範囲が小さかったものの、WT、KO の染色の割合に差はみられなかった。さらに、マウスの肋軟骨より採取した初代軟骨細胞の培養系で細胞増殖アッセイを行ったところ、KO では細胞の増殖が WT に比較し抑制されていた。さらに、術後 2 日目に KO の骨折部に mPGES-1 アデノウイルスを注入したところ、抑制されていた仮骨の形成が WT と同程度に回復した。従って、mPGES-1 は骨折後早期での軟骨細胞の増殖に関与することで骨折治癒において重要な働きをしていることが示された。

以上、本論文は mPGES-1 KO マウスの生理的状态および各種病態モデルを解析することで、生体内の骨組織における mPGES-1 の役割を明らかにした。mPGES-1 阻害剤は、COX-2 阻害剤に替わる理想的な消炎鎮痛剤として期待されている。本研究はその阻害剤の骨関連疾患への応用の可能性および問題点提起に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。