

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 和田 吉弘

関節リウマチは関節軟骨及び骨組織の破壊を特徴とする慢性の全身性疾患である。また、変形性関節症は関節軟骨の局所的な変性を特徴とする関節疾患である。いずれもプロスタグランジンやサイトカインなどの炎症性メディエーターが病態形成に関与すること、特にインターロイキン (IL)-1 は関節組織におけるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の産生を誘導し、軟骨組織の破壊を亢進することが示唆されている。p38 は炎症反応のシグナル伝達に関与することが知られているマイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAP キナーゼ) の 1 種である。本論文は、関節リウマチ及び変形性関節症の病態形成に対する新規 p38MAP キナーゼ阻害剤の作用に関する研究をまとめたもので、6 章から成る。

研究の背景、目的等を記載した第 1～3 章に続いて、第 4 章では新規に合成された p38 MAP キナーゼ阻害剤 R-130823 の酵素阻害活性と抗炎症作用が述べられている。R-130823 {2-(4-fluorophenyl)-4-(1-phenethyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-4-yl)-3-(pyridin-4-yl)-1H-pyrrole} は p38 MAP キナーゼの α アイソフォームに対して選択的かつ高い阻害活性を示した。また lipopolysaccharide により刺激したヒト全血において R-130823 は tumor necrosis factor (TNF)- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 の産生を抑制し、ラットアジュバント関節炎モデルにおいては用量に依存した治療効果及び鎮痛作用を示した。マウスコラーゲン誘導関節炎モデルでは R-130823 は関節組織破壊の進展を抑制した。マウスの罹患膝関節を病理組織学的に評価したところ、R-130823 は繊維芽細胞・滑膜細胞の増殖、好中球の浸潤などを抑制することが明らかになった。

第 5 章では、ヒト軟骨細胞及びウシ軟骨組織における R-130823 の薬理作用が述べられている。ヒト軟骨初代培養細胞において、R-130823 は IL-1 β 刺激により誘導される MMP-13, MMP-1 及びプロスタグランジン E₂ (PGE₂) の産生を抑制した。この抑制は R-130823 による MMP-13, MMP-1 及びシクロオキシゲナーゼ-2 の mRNA レベルでの抑制に起因していることが示唆された。ウシ鼻中隔軟骨の器官培養では、IL-1 α と oncostatin M の刺激により軟骨組織内のコラーゲン分解が誘導されたが、R-130823 はこのコラーゲン分解を抑制することも見出された。

パンヌスは関節リウマチの主徴であり、パンヌス内部の滑膜細胞は炎症性サイトカイン、PGE₂ 及び MMP を産生する。第 6 章では、スフェロイド (多細胞凝集塊) 状態に培養

した滑膜細胞における p38 MAP キナーゼの機能とそれに及ぼす R-130823 の作用を検討している。ヒト滑膜肉腫細胞株 SW 982 は非接着性培養プレートにおいてスフェロイドを形成し、このスフェロイドは IL-1 β , IL-6, IL-8, PGE₂ 及び MMP-2, MMP-13 を産生することを見出した。スフェロイド状態の SW 982 細胞では p38 MAP キナーゼのリン酸化が認められ、これが炎症性サイトカイン産生亢進を誘導していると考えられたが、R-130823 は濃度に依存して IL-6, IL-8 及び MMP-13 の産生をタンパク質レベル、mRNA レベルで抑制することが確認された。一方、スフェロイド状態の SW 982 細胞においては、R-130823 は IL-1 β 刺激で誘導される PGE₂ 産生を抑制しなかったが、SW 982 細胞を単層培養したときには PGE₂ 産生を抑制した。両培養系において R-130823 の PGE₂ 産生抑制効果に差が認められたことから、滑膜細胞における p38 MAP キナーゼのシグナル伝達経路を検討するにあたり、スフェロイド培養系は従来の単層培養系を補完する実験系となりうることが示された。

これらの結果より、関節疾患の罹患組織においては p38 MAP キナーゼが炎症性メディエーターや MMP の産生制御に関与することが示唆された。R-130823 のような p38 阻害剤は関節リウマチ及び変形性関節症に対して既存薬にはない治療効果をもたらすことが期待される。

以上、本論文は新規な p38MAP キナーゼ阻害剤 R-130823 を用いて関節組織の炎症に MAP キナーゼが関与することを示すとともに、R-130823 の各種薬理作用を *in vitro*, *in vivo* 実験系によって明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が学位（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。