

学位論文要旨

氏名 南谷 淳



論文題目

「Activation of calcitonin gene-related peptide signaling through the prostaglandin E2-EP1/EP2/EP4 receptor pathway in synovium of knee osteoarthritis patients」

(変形性膝関節症の滑膜組織における COX-2/PGE2/EP1/EP2/EP4 経路を介したカルシトニン遺伝子関連ペプチドシグナリングの制御)

指導教授承認印

高橋 晶子

Activation of calcitonin gene-related peptide signaling through the prostaglandin E2-EP1/EP2/EP4 receptor pathway in synovium of knee osteoarthritis patients

(変形性膝関節症の滑膜組織における COX-2/PGE2/EP1/EP2/EP4 経路を介したカルシトニン遺伝子関連ペプチドシグナリングの制御)

氏名 南谷 淳

【背景】

変形性膝関節症の最も重要な症状は痛みである。非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) は、変形性膝関節症に対する鎮痛薬として最も多く使用されている薬剤である。しかし、NSAIDs を長期に使用することにより、腎障害・消化器障害などの副作用が出現することから、より効果的で副作用の少ない鎮痛薬の開発が期待される。

変形性膝関節症の疼痛のメカニズムの研究として、近年変形性膝関節症の滑膜組織におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (Calcitonin gene-related peptide : CGRP) の発現と疼痛との関連性が示唆されているが、その発現制御機構については明らかになっていない。本研究では、変形性膝関節症患者から手術時に採取した滑膜組織を用いて CGRP の発現制御機構を検討した。

【方法】

同意を得た変形性膝関節症患者 43 名から人工膝関節置換術施行時に膝関節内より滑膜組織を採取した。採取した滑膜組織の RNA を抽出し、リアルタイム PCR を用いて CGRP および炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 と COX-2 の発現を検討し、CGRP 発現との相関について検討した。また、変形性膝関節症患者 12 名に対して、滑膜組織からコラゲナーゼ処理により有核細胞を採取し、1 週間培養した。培養した滑膜細胞を TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGE2 で刺激後、リアルタイム PCR を用いて CGRP および CGRP の受容体である RAMP1、CLR の発現を検討した。さらに、培養した滑膜細胞に PGE2 の受容体のサブタイプである EP1、EP2、EP3、EP4 アゴニストで刺激後、CGRP および RAMP1、CLR の発現を検討した。

【結果】

滑膜組織のリアルタイム PCR の結果、CGRP は COX-2 と有意な相関を示した (R=0.529, P<0.001)。TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 とは明らかな相関は認められなかった。免疫組織染色の結果、滑膜表層に COX-2 と CGRP 陽性細胞の存在が認められた。in vitro 培養系において PGE2、TNF- α 、IL-1 β 、刺激により CGRP の発現は有意に増加した (P<0.05)。一方、RAMP1 の発現は PGE2 刺激でのみ有意に増加した。CLR の発現は PGE2、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 刺激によって変化しなかった。さらに CGRP は EP 4 アゴニストの刺激により有意に発現が増加し、RAMP 1 は EP 1、EP 2 の刺激により有意に発現が増加した (P<0.05)。いずれの刺激に対しても CLR の発現増加は認められなかった。

【考察】

本研究では、滑膜組織において COX-2 の発現と CGRP の発現に相関が認められ、COX-2 の生成物である PGE2 の刺激により CGRP の発現が促進された。一方、*in vitro* 培養系において TNF- α 、IL-1 β は CGRP の発現を誘導したが、滑膜組織の PCR の結果では CGRP と TNF- α 、IL-1 β 発現の間に相関は認められなかった。近年、滑膜組織へのメカニカルストレスは TNF- α 、IL1B を増加させることなく、PGE2 を増加させることが報告されている。本研究から滑膜組織における CGRP の発現増加には COX-2/PGE2 経路が関与している可能性が示唆された。

近年、変形性膝関節症の患者から分離培養された滑膜細胞が RAMP1 mRNA を発現することが報告されているが、この発現の制御機構が解明されていない。本研究でわれわれは、滑膜細胞において RAMP1 の発現を検出し、PGE2 が CGRP の発現だけでなく RAMP1 の発現も制御していることが示唆された。

PGE2 の受容体には EP1、EP2、EP3、EP4 の 4 つのサブタイプがある。われわれの研究では、滑膜組織において、EP4 アゴニストの刺激により CGRP の発現が促進され、EP1、EP2 アゴニストの刺激により RAMP1 の発現が促進された。このことから PGE2 が異なる EP 受容体を介して CGRP/CGRP 受容体の発現制御機構の調節を行っている可能性が示唆された。

CGRP および CGRP 受容体阻害薬は偏頭痛の治療薬として臨床研究されている。また、抗 CGRP 抗体は変形性膝関節症モデルラットに対して鎮痛作用を示すことが報告されており、変形性膝関節症患者に対する臨床試験が開始されている。本研究において、変形性膝関節症患者の疼痛と CGRP 発現レベルの関係については明らかになっていないが、PGE2、EP 受容体を介した CGRP/CGRP 受容体の発現調節機構は変形性膝関節症の疼痛治療において有益な情報となるかもしれない。