

令和 4年 9月

末田悠里子 学位論文審査要旨

主査 千 酌 浩 樹
副主査 山 崎 章
同 萩 野 浩

主論文

Specialized pro-resolving mediators do not inhibit the synthesis of inflammatory mediators induced by tumor necrosis factor- α in synovial fibroblasts

(特異的炎症収束性脂質メディエーターは、滑膜線維芽細胞の腫瘍壊死因子- α によって引き起こされる炎症性メディエーターの合成を阻害しない)

(著者：末田悠里子、岡崎亮太、舟木佳弘、長谷川泰之、石川博基、平山勇毅、乾元氣、原田智也、高田美樹、森田正人、山崎章)

令和4年 Yonago Acta Medica 65巻 111頁～125頁

参考論文

1. Resolvin E1 inhibits osteoclastogenesis and bone resorption by suppressing IL-17-induced RANKL expression in osteoblasts and RANKL-induced osteoclast differentiation

(レゾルビンE1は、IL-17による骨芽細胞のRANKL発現やRANKLによる破骨細胞分化を制御することによって破骨細胞成熟や骨破壊を抑制する)

(著者：舟木佳弘、長谷川泰之、岡崎亮太、山崎章、末田悠里子、山本章裕、矢内正晶、福嶋健人、原田智也、牧野晴彦、清水英治)

平成30年 Yonago Acta Medica 61巻 8頁～18頁

2. The efficacy and safety of reduced-dose sulfamethoxazole-trimethoprim for chemoprophylaxis of *Pneumocystis pneumonia* in patients with rheumatic diseases

(リウマチ性疾患患者におけるニューモシスチス肺炎予防のための低用量スルファメトキサゾールトリメトプリムの有効性と安全性)

(著者：原田智也、加藤竜平、末田悠里子、舟木佳弘、高田美樹、岡崎亮太、長谷川泰之、山崎章)

令和3年 Modern Rheumatology 31巻 629頁～635頁

学位論文要旨

Specialized pro-resolving mediators do not inhibit the synthesis of inflammatory mediators induced by tumor necrosis factor- α in synovial fibroblasts

(特異的炎症収束性脂質メディエーターは、滑膜線維芽細胞の腫瘍壊死因子- α によって引き起こされる炎症性メディエーターの合成を阻害しない)

腫瘍壊死因子(TNF)- α は関節リウマチの病態に関与する炎症性サイトカインの1つである。また、 ω 3系不飽和脂肪酸由来の代謝物であるレゾルビン(Rv)D1、RvE1、マレシン-1(MaR1)は抗炎症性脂質メディエーターであり、特異的炎症収束前駆物質(SPMs)として知られている。本研究では滑膜線維芽細胞(FLS)のTNF- α 刺激に対するSPMの抗炎症作用を検討する事を目的とした。

方法

本実験では関節リウマチ(RA)患者由来FLSであるMH7A、および変形性関節症(OA)患者由来のFLSを用いた。MH7AへのTNF- α 刺激に対するCOX-2やmPGES-1、IL-6、MMP-3発現をreal-time PCR、Western Blotting (WB) で評価した。さらに培養上清中のPGE₂およびIL-6をELISA法で評価した。また、MH7AおよびOA患者由来FLSに対してSPMsを1時間前添加した後、10ng/mlのTNF- α で刺激し、12時間後にmRNA発現を評価した。次に、FLSに発現しているRvE1受容体(CMKLR1およびBLT1)、RvD1受容体(FPR2)がTNF- α によって影響を受けるかreal-time PCRおよびWBで評価した。また、MH7A細胞において、TNF- α によるCOX-2やIL-6の発現に関するシグナル伝達機構を検討するため、MAPKの阻害薬であるMEK阻害薬(U0126)、JNK阻害薬(SP600125)、p38阻害薬(SB202190)を用い、SPMsがシグナル伝達経路に及ぼす影響についてWBで評価した。

結果

MH7A細胞ではTNF- α によってCOX-2、mPGES-1、IL-6およびMMP-3のmRNAおよび蛋白の発現が増加した。また培養上清中のPGE₂やIL-6の発現もTNF- α によって増加した。SPMsは、TNF- α 刺激によるこれらの炎症性メディエーターのmRNA発現の増加を抑制する効果は認められなかった。同様の結果は変形性関節症患者由来FLSでも認めた。次に、MH7A細胞をTNF- α で刺激後のCMKLR1のmRNA発現量はTNF- α 刺激で低下した。しかし、WB法では、CMKLR1の発現量の変化は認めなかった。また、BLT1の発現量、FPR2の発現量もTNF- α 刺激によって変化を認めなかった。MH7A細胞でTNF- α によるCOX-2の発現はMEK阻害剤(U0126)

およびp38阻害剤(SB202190)の存在下で抑制された。一方、mPGES-1の発現量はどの阻害剤でも抑制されなかった。また、TNF- α によるIL-6の発現はp38阻害剤(SB202190)の存在下で抑制された。MH7A細胞ではTNF- α 刺激後15分でERK、p38、JNK、NF- κ Bの発現が亢進したが、RvE1、RvD1、MaR1の前添加で抑制されず、SPMsはTNF- α 刺激によるシグナル伝達系に影響を及ぼさない事が分かった。

考 察

本研究では、FLSのTNF- α による炎症反応に対するSPMsの効果を検討し、炎症抑制効果がみられない事を確認した。RvE1の受容体はCMKLR1とBLT1、RvD1の受容体はFPR2である。SPMsによる抗炎症効果がみられない機序を検討するために、TNF- α の刺激によりSPMs受容体発現量に変化がみられるか検討したが、SPMs受容体の蛋白発現量には変化がみられなかったため、SPMsがFLSにおいて抗炎症作用を示さない理由にSPMs受容体発現は関連しないものと考えられた。さらに、本研究ではFLSにおけるTNF- α 刺激によるp38のリン酸化がCOX-2やIL-6の発現に重要な役割を担っていることを明らかにし、SPMsはこのp38リン酸化を抑制しないことを明らかにした。このことがSPMsがFLSにおいてTNF- α 刺激による炎症性メディエーターを抑制しないことの一因と考えられた。RAの病態には多くの種類の細胞が関与しており、FLS以外の様々な細胞におけるSPMの効果は報告されている。したがって本研究結果から、SPMsによる炎症抑制効果は細胞種類により異なることが推定された。RA患者の滑膜組織におけるSPMsの正確な効果を明らかにするために、SPMsへ感受性ある細胞とない細胞の詳細な機序等のさらなる研究が必要である。また、RAの病態には、今回検討した炎症性メディエーター以外にも様々なメディエーターの関与があり、これらに対するSPMsの効果も検討する必要があると考えられた。

結 論

これまで、RA病態に関与する多くの種類の細胞において ω 3由来のSPMsの抗炎症作用が報告されているが、RAおよびOA患者由来FLSではTNF- α 刺激による炎症性メディエーターの抑制は認められなかった。これには、これらの細胞では炎症性メディエーターの産生に関わるp38の活性化を抑制する作用がSPMsには認められなかったためであると考えられた。