

平成19年11月

庄司孝子 学位論文審査要旨

主 査 神 崎 晋
副主査 井 藤 久 雄
同 寺 川 直 樹

主論文

Involvement of p38 MAP kinase in lipopolysaccharide-induced production of pro- and anti-inflammatory cytokines and prostaglandin E₂ in human choriodecidua

(ヒト絨毛脱落膜におけるLPS誘導性の炎症性および抗炎症性サイトカインとPGE₂産生に関わるp38 MAP kinaseの役割)

(著者：庄司孝子、吉田壮一、光成匡博、三宅法子、月原悟、岩部富夫、原田省、寺川直樹)

平成19年10月 Journal of Reproductive Immunology 75巻 82頁～90頁

学 位 論 文 要 旨

Involvement of p38 MAP kinase in lipopolysaccharide-induced production of pro- and anti-inflammatory cytokines and prostaglandin E₂ in human choriodecidual

(ヒト絨毛脱落膜におけるLPS誘導性の炎症性および抗炎症性サイトカインとPGE₂産生に関わるp38 MAP kinaseの役割)

早産の病因である絨毛膜羊膜炎(chorioamnionitis:CAM)では、羊膜への細菌感染がCOX-2(cyclooxygenase-2)誘導を介してPG産生を促し、それが陣痛発来につながるものと考えられているが、そのメカニズムは明らかでない。細胞内シグナル伝達を担うMAP kinase経路のなかで、ERK1/2、p38 MAP kinaseおよびJNKは炎症などの細胞ストレスにより活性化され、炎症性あるいは抗炎症性サイトカインの産生を調節してCOX-2発現に関与することが示されている。最近になって、MAP kinase阻害剤は抗炎症作用を発揮することで炎症性疾患や自己免疫疾患に対する治療薬としての期待がされている。本研究では、CAMでのサイトカイン産生におけるMAP kinaseの役割を明らかにしようとした。

方 法

同意の得られた陣痛未発来の、満期産の帝王切開症例より採取した絨毛脱落膜を対象とした。グラム陰性菌の細胞壁の構成成分であるlipopolysaccharide(LPS) 0-5 µg/mlを添加して組織培養を行い、これをCAMのin vitroモデルとした。ERK1/2、p38 MAP kinaseおよびJNKの活性化はWestern blot法で検討した。各々の分子の阻害剤PD98059(100 µM)、SB202190(15 µM)あるいはSP600125(10 µM)を併用添加し、24時間後の培養上清中の炎症性サイトカインTNFαと抗炎症性サイトカインIL-10ならびにPGE₂およびPGF₂α濃度をELISAで測定した。COX-2の蛋白発現はWestern blot法で、リン酸化p38 MAP kinaseの局在は免疫組織化学により検討した。

結 果

LPS添加15分以内にERK1/2、p38 MAP kinaseおよびJNKの活性化がみられた。培養上清中TNFαとIL-10濃度は、LPS添加濃度ならびに時間依存性に上昇した。

COX-2 発現も同様に、LPS 添加濃度ならびに時間依存性に増強した。p38 MAP kinase の阻害剤である SB202190 添加により、LPS で誘導される TNF α と IL-10 はともに有意に抑制されたが、TNF α においてその抑制効果は大きかった。一方、PD98059 と SP600125 の添加は有意な抑制効果を示さなかった。COX-2 発現とともに培養上清中の PGE₂、PGF₂ α 濃度も SB202190 添加により有意に減少した。免疫染色においてリン酸化 p38 MAP kinase は extravillous trophoblast cell に存在し、その局在は主として細胞質内に認められた。

考察と結論

CAM の in vitro モデルを用いた本研究において、MAP kinase 経路のうち ERK1/2、p38 MAP kinase および JNK が活性化されていることが確認された。これまでの報告によると、絨毛脱落膜において LPS が TNF α 産生を誘導し、TNF α によって IL-10 が誘導され、その IL-10 によって TNF α 産生が抑制されるという positive および negative feedback 機構が存在するものと考えられている。本研究では、p38 MAP kinase 阻害剤のみが炎症性および抗炎症性サイトカインの産生をともに抑制し、COX-2 発現と PG の産生も有意に抑制した。一方でまた、p38 MAP kinase 阻害剤は培養上清中の TNF α / IL-10 比を著明に低下させたことから、その抑制効果は炎症性サイトカインにおいて大きく、ために抗炎症作用が強く発揮されるものと考えられた。このことから、p38 MAP kinase 阻害剤は炎症により惹き起こされる子宮収縮を抑制できるのではないかと考察された。

現在、早産予防治療は主として子宮収縮そのものを抑えることを目的として行われているが、p38 MAP kinase の阻害は CAM の発生を抑制し、早産予防につながる可能性が示唆された。