



Title	Lipopolysaccharide-Dependent Prostaglandin E2 Production Is Regulated by the Glutathione-Dependent Prostaglandin E2 Synthase Gene induced by the Toll-Like Receptor4/MyD88/NF-IL6 Pathway
Author(s)	植松, 智
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45376">https://hdl.handle.net/11094/45376</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	植松智
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第18469号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Lipopolysaccharide-Dependent Prostaglandin E <sub>2</sub> Production Is Regulated by the Glutathione-Dependent Prostaglandin E <sub>2</sub> Synthase Gene induced by the Toll-Like Receptor4/MyD88/NF-IL6 Pathway (LPS 依存的な PGE <sub>2</sub> 産生は TLR4/MyD88/NF-IL6 を介して誘導されるグルタチオン依存的 PGE 合成酵素によって制御されている。)
論文審査委員	(主査) 教授 審良 静男  (副査) 教授 菊谷 仁 教授 平野 俊夫

## 論文内容の要旨

## 【目的】

炎症の際に大量の PGE<sub>2</sub> がマクロファージから産生され、様々な免疫反応に関わるといわれている。今回、我々は suppression subtractive hybridization 法を用いて、マクロファージにおいて膜結合型プロスタグランジン合成酵素 (mPGES) を LPS で誘導される遺伝子として同定した。mPGES 遺伝子の LPS による発現様式と生体での役割を検討した。

## 【方法ならびに成績】

mPGES の LPS による発現誘導をマウスの腹腔マクロファージにおいて検討した。mPGES は未刺激では発現が認められず、LPS 刺激により劇的に誘導された。

次に、LPS を認識するレセプターである Toll-like receptor 4 (TLR4) とそのアダプター分子である MyD88 のノックアウトマウスで mPGES の発現を調べた。LPS による mPGES の誘導は、TLR4 および MyD88 のノックアウトマウスで完全に消失していた。

マクロファージにおいて、NF-IL6 は炎症性刺激により転写活性が増強し、様々な遺伝子の発現に関わる。Cox-2 を含むいくつかの LPS で誘導される遺伝子は、そのプロモーター領域に NF-IL6 結合領域を持っている。それ故、NF-IL6 のノックアウトマウスのマクロファージにおいて、LPS による mPGES 遺伝子の発現を調べた。野生型のマウスと異なり、NF-IL6 のノックアウトマウスでは LPS による mPGES の誘導及び PGE<sub>2</sub> 産生が完全に消失していた。さらにアラキドン酸経路において PGE<sub>2</sub> 産生に関わる酵素である Cox-1、Cox-2、cPGES の発現を NF-IL6 ノックアウトマウスの腹腔マクロファージで検討した。Cox-1 と cPGES の発現は、野生型と同じ挙動を示した。LPS による Cox-2 の発現は、野生型よりも遅れるものの、12 時間以降では十分に発現していた。以上より、LPS に反応した PGE<sub>2</sub> の産生には、NF-IL6 による mPGES の発現誘導が必須であることがわかった。

mPGES の生体での役割を解析するため mPGES のノックアウトマウスを作製した。mPGES ノックアウトマウス

は、外見上特に異常なく、出産数もメンデルの法則に従っていた。mPGES のノックアウトマウスで、マクロファージからの PGE2 の産生を検討した。末刺激のマクロファージでは、野生型と同様に少量の PGE2 産生を認めたが、LPS による PGE2 の産生誘導は完全に消失していた。次に mPGES のノックアウトマウスに LPS を腹腔内に投与し、PGE2 の血中濃度を調べた。野生型もノックアウトマウスも LPS 刺激前に少量の PGE2 産生を認めた。野生型のマウスでは、LPS による血中 PGE2 濃度の増加が認められたが、ノックアウトマウスでは全く認められなかった。以上より mPGES は LPS に反応した PGE2 の産生に必要不可欠な酵素であることがわかった。

In vitro の実験により PGE2 がサイトカインの産生を抑制することが示してきた。それ故、mPGES のノックアウトマウスにおいて、LPS によるサイトカイン (TNF-alpha, IL-6, IL-12p40) 産生を測定した。LPS のによるマクロファージからの炎症性サイトカインの産生量は、野生型のマウスと差がなかった。また、mPGES のノックアウトマウスの腹腔内に LPS を投与し、TNF-alpha と IL-12p40 の血中濃度を経時に測定したが、野生型のマウスとの間に差は認められなかった。mPGES のノックアウトマウスの腹腔内に致死量の LPS を投与し、野生型のマウスと生存率を比較したが、生存率にも差は認められなかった。従って、LPS による PGE2 の産生は炎症性サイトカインの産生及び免疫反応の修飾には必要不可欠ではないことがわかった。

#### 【総括】

1. mPGES は LPS により TLR4/MyD88/NF-IL6 を介する経路によって誘導される
2. PGES は LPS による PGE2 産生に必要不可欠な酵素である
3. PGES は LPS による免疫反応の修飾には必要不可欠ではない。

#### 論文審査の結果の要旨

申請論文は、膜結合型 PGE2 合成酵素 (mPGES) を LPS で誘導される遺伝子として同定し、その LPS による発現が TLR4/MyD88/NF-IL6 を介して誘導されることを明らかにした。さらにその遺伝子欠損マウスを作製・解析し、mPGES が LPS による PGE2 産生に必須の酵素であることを明らかにした。さらに、mPGES が LPS による免疫反応の修飾には必要不可欠ではないことを示した。炎症治療において Cox 阻害薬のしめる役割は大きいが、プロスタノイド全般を抑制するため副作用も無視できないのが現状である。現在、個々のプロスタノイドの合成酵素阻害薬の開発が待たれている。mPGES の誘導及びその役割を詳細に解析したこの成果は、今後の炎症治療に大いに役立つものであり、学位の授与に値すると考えられる。