The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Prevention of the Onset and Progression of Collagen-Induced Arthritis in Rats by the Potent p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Inhibitor FR167653
Author(s)	西川, 昌孝
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45486
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名　西川昌孝（にしかわ まさたか）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　19328　号

学位授与年月日　平成17年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科臓器制御医学専攻

学位論文名　Prevention of the Onset and Progression of Collagen-Induced Arthritis in Rats by the Potent p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Inhibitor FR167653
（p38 Mitogen-Activated Protein Kinase inhibitor FR167653によるラットコラーゲン関節炎の発症及び関節破壊進行の抑制）

論文審査委員　（主査）
教　授　吉川　秀樹

（副査）
教　授　平野　俊之　　教　授　青笹　克之

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

関節リウマチは全身的免疫異常を伴う慢性進行性多関節炎である。特にTNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8などの炎症性サイトカインは関節破壊の中心的な役割を担っている。関節リウマチでの骨関節破壊においては、これらのサイトカインから誘導される蛋白分解酵素に加えて破骨細胞による骨破壊もまた重要であり、RANK ligandやTNF-αがこの破骨細胞による骨破壊のレギュレーターであることが報告されている。p38 MAPKはTNF-α、IL-1βやRANK ligandの共通の細胞内シグナル伝達分子である。そのため我々は関節リウマチのような炎症性サイトカインが重要な役割を担っている関節炎の治療にp38 MAPK阻害剤が有効ではないかと仮定した。

〔　方法ならびに成績　〕

p38 MAPKの活性化を阻害するp38 MAPK選択的阻害剤であるFR167653をコラーゲン関節炎ラットに皮下投与した。コラーゲン関節炎（CIA）は多発性関節炎のモデルとして広く用いられており、多くの組織病理学的所見が関節リウマチと共通している。CIAはbovine type Ⅱ collagenとFreund's incomplete adjuvantを6週齢雌のルイスラットに感作させることにより誘発した。今回、予防投与モデルと治療投与モデルという2つの異なった治療モデルで実験を行った。予防投与モデルでは32 mg/kgのFR167653をbooster injection日である7日目から4週間連日皮下投与を行った。投与無しのCIAラットでは21日目までに最大の足関節腫脹が生じ徐々に減少したが、阻害剤を投与したほとんどのラットでは実験期間を通して足関節腫脹は見られなかった。CIAラットの足関節のレントゲン検査では活発な関節炎や骨破壊をしめす重度の骨吸収や骨びらんが見られた。組織学的にはCIAラットでは関節軟骨の消失と炎症性細胞の浸潤、TRAP陽性破骨細胞数の増加が見られた。しかしこれらの所見は投与群ではほとんど見られず、ほぼ正常所見であった。治療投与モデルでは阻害剤の投与は関節炎発症後の21日目から同様に4週間行った。このモデルでも阻害剤はCIAラットの足関節腫脹をほぼ正常レベルまで減少させる有意な効果を示した。投与群のレントゲン、組織学的所見、TRAP陽性破骨細胞数はCIAラット群に比べて著しく改善していた。次に予防投与群での

血清及び組織中のサイトカイン濃度を測定した。CIA ラットでは血清中 TNF-α、IL-1β濃度と足関節での骨軟部組織中の IL-1β濃度が上昇していたが、阻害剤の投与群では著しく低値であった。阻害剤投与による in vivo での破骨細胞数の減少のメカニズムを明らかにするために soluble RANK ligand 及び TNF-α による in vitro での破骨細胞分化誘導実験を行った。soluble RANK ligand による TRAP 陽性細胞形成は阻害剤により濃度依存的にほぼ完全に阻害された。またこの阻害剤は RANK ligand の選択的 decoy である OPG 存在下での TNF-α による TRAP 陽性細胞形成をも阻害した。骨髄中での CD4 陽性 T 細胞の増加が関節リウマチや CIA の病因に関連している可能性が報告されているが、今回予防投与モデル骨髄細胞で FACS 解析を行った。CD4 陰性 CD8 陽性 T 細胞の割合が CIA で有意に増加しており、阻害剤投与群ではその割合はほぼ正常ラットと同レベルであった。

〔　総　　括　〕

我々は p38 MAPK 阻害剤である FR167653 が CIA の発症を完全に抑制し、また関節炎発症後でも著しく関節炎を改善し関節破壊を抑制させることを初めて証明した。そのメカニズムは炎症性サイトカインの産性抑制及び悪循環メカニズムの阻害による血清及び組織中の炎症性サイトカイン濃度の減少、in vitro、vivo での破骨細胞数の減少及び関節破壊の抑制が示す様に RANK ligand や TNF-α シグナルの中心的レギュレーターである p38 MAPK の直接阻害による破骨細胞分化の抑制が考えられる。また CD4 陰性 CD8 陽性 T 細胞が CIA の発症に何らかの役割を果たしており、FR167653 の投与により局所骨髄への CD4 陰性 CD8 陽性 T 細胞の蓄積が阻害された可能性も考えられる。p38 MAPK 阻害剤である FR167653 は CIA ラットにおいて関節炎の発症を阻害し関節破壊の進行を抑制した。これらの結果は、関節リウマチにおいて p38 MAPK が重要な治療ターゲットになりうる可能性を示している。

論文審査の結果の要旨

本研究は関節リウマチの動物モデルであるコラーゲン関節炎ラットでの p38 MAPK 阻害剤の効果を検討しその有用性を明らかにしたものである。コラーゲン関節炎の病態には TNF-α、IL-1β、IL-6 などの炎症性サイトカインと RANK ligand や TNF-α によって制御される破骨細胞が重要な役割を担っているが、本研究では p38 MAPK 阻害剤の予防投与及び関節炎発症後からの治療投与においても関節炎症状及び骨関節破壊が著しく抑制されることを示した。また組織学的には罹患関節における破骨細胞数の減少を確認した。また p38 MAPK 阻害剤投与群で全身及び局所での TNF-α、IL-1β などの炎症性サイトカインの産生が抑制されていたことを見いだした。これらの結果に加え、in vitro での互いに独立した soluble RANK ligand 及び TNF-α による破骨細胞への分化誘導系が p38 MAPK 阻害剤により濃度依存的にほぼ完全に阻害されたこと、コラーゲン関節炎にて上昇していた骨髄中の CD4-CD8a＋T 細胞の割合が p38 MAPK 阻害剤投与群でほぼ正常であることなどから p38 MAPK が多方面からコラーゲン関節炎の病態にかかわっており、またその活性の阻害により関節炎が抑制されることが示された。

本研究は関節リウマチモデルであるコラーゲン関節炎ラットでの p38 MAPK の関与を証明し、関節リウマチにおける新たなる重要な治療ターゲットの可能性を提示したものであり、学位の授与に値すると考えられる。