

学位授与番号：甲 1116 号

氏 名：伊藤 晴康

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：令和 1 年 10 月 23 日

学位論文名：

**Prokineticin2 antagonist, PKRA7 suppresses arthritis in mice with collagen-induced arthritis.**

（Prokineticin2 アンタゴニストは関節炎モデルマウスの関節炎を抑制する）

学位論文審査委員長：教授 丸毛啓史

学位論文審査委員：教授 石渡賢治 教授 朝比奈昭彦

# 論 文 要 旨

氏 名	伊藤 晴康	指導教授名	黒坂 大太郎
-----	-------	-------	--------

主論文

Prokineticin2 antagonist, PKRA7 suppresses arthritis in mice with collagen-induced arthritis.

(Prokineticin2 アンタゴニストは関節炎モデルマウスの関節炎を抑制する)

Ito Haruyasu, Noda Kentaro, Yoshida Ken, Otani Kazuhiro,

Yoshiga Masayuki, Oto Yohsuke, Saito Saburo, Kurosaka Daitaro

BMC Musculoskeletal Disorders.2016; 17: 387: 13

要旨

## 【背景・目的】

関節リウマチモデルのモデルマウスである collagen induced arthritis (CIA)において、関節炎部に Prokineticin 2 (PK2)が高発現している。今回の目的は CIA マウスにおいて PK2 の作用を阻害することにより関節炎の状態がどの様に変化するかを調べることである。

## 【方法】

CIA マウスの関節部における PK2, Prokineticin receptor 1 (PKR1), Prokineticin receptor 2 (PKR2) mRNA 発現を real-time PCR 法により測定した。PKR1, PKR2 タンパクの発現を免疫組織学的方法により解析した。PK2 receptor antagonist である PKRA7 を 2 週間、腹腔内投与し、コントロール群と PKRA7 投与群における関節炎の推移を関節炎点数で評価した。関節部における IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , VEGF mRNA 発現量を real-time PCR 法で測定し、コントロール群と PKRA7 投与群で比較した。

## 【結果】

PKR1 の発現は増殖滑膜に浸潤している好中球に認められた。PKR2 の発現は増殖滑膜中のマクロファージ様細胞に認められた。PK2 mRNA と PKR2 mRNA の発現は関節炎部に高発現しており、その発現量は関節炎点数と相関関係が認められた。PKRA7 投与により関節炎は抑制された。

## 【結論】

PK2 receptor antagonist である PKRA7 の投与により、関節炎の重症度が低下した。関節炎の病態において PK2 は重要な関与をしていることが分かった。

## 学位論文審査結果の要旨

伊藤晴康氏提出の学位申請論文は、「Prokineticin 2 antagonist, PKRA7 suppresses arthritis in mice with collagen-induced arthritis (Prokineticin 2アンタゴニストは関節炎モデルマウスの関節炎を抑制する)」と題するBMC Musculoskeletal Disorders (IF:1.739)に掲載された英文論文で、リウマチ膠原病内科の黒坂大太郎教授の研究指導により作成されたものである。以下に、これらの論文に基づく論文審査委員会の結果を報告する。

【要旨】マウスに Collagen induced arthritis を発症させるモデルにおいて、Prokineticin 2 receptor のアンタゴニストである PKRA7 を投与すると関節炎が抑制される。

### 【口頭試験および審査結果】

以上の論文に対して、去る令和元年10月2日に、朝比奈昭彦教授、石渡賢治教授とともに、公開で学位論文審査会を開催した。伊藤氏の研究概要の発表に続いて口頭試験を行った。席上、1) 遺伝子発現のコントロールを、なぜ未処置マウスではなく、ブースト時期の day21 にしたのか。2) PK2、PKR1 および PKR2 発現の免疫組織学的な観察では、それぞれのタンパクに対する抗体の単一シグナル観察であったが、同時に各細胞マーカーを用いた二重染色を行った方が各タンパクを発現する細胞の同定ができて良かったのではないかと。その場合、マクロファージのマーカーとして、本モデルでは何を用いるのが最適なのか。

3) 血管新生については VEGF の遺伝子発現のみのデータしかないが、組織学的な検討を加えた方がより良い論文になったのではないかと。4) PKR2 レセプター発現と関節炎の重症度との正の相関、PKR2 レセプターがマクロファージ様細胞に発現しているという免疫組織学的所見、アンタゴニスト投与による炎症性サイトカイン遺伝子発現の低下の結果から、本 CIA マウスの関節炎の主要な原因炎症細胞はマクロファージであると考えて良いのか。5) PKR1 を発現するものは好中球、一方 PKR2 を発現するものはマクロファージ様細胞で、それぞれが PK2 を介して本関節炎の病態に重要な関与をしていると考察したが、さらなる解析としてそれぞれの細胞についてどのような実験を考えているのか。6) PKR2 mRNA の相対的発現量が経時的に上昇しているのは、関節部にマクロファージなど炎症細胞が浸潤したためか、あるいは、個々の炎症細胞の受容体発現量が増えたためか、どちらの関与が大きいかと考えるか。7) PKRA7 を関節炎発症後に投与した場合、関節炎の抑制効果があるか確認したか。8) PK2 をマクロファージなどの炎症細胞に直接作用させてサイトカイン制御をみる *in vitro* の実験を行ったか。9) このマウスの関節炎の実験系は、T 細胞活性化に依存するものか。10) 血管新生に絡み、PK2 の受容体は血管内皮細胞にも発現しているか、免疫染色ではどうだったか。11) PK2 アンタゴニストで炎症性サイトカインである IL-1,6、TNF $\alpha$  は抑制されたが、逆に炎症性サイトカインを抑制すると PK2 にはどのような影響があるかと考えるか、などの多くの質問がなされた。これに対して伊藤氏は、的確に回答した。その後、両教授と慎重に審議した結果、伊藤晴康氏の提出論文は、Prokineticin 2 がリウマチ性関節炎の病態に深く関与していることを明らかにした点で学位申請論文として、その価値十分と判断した次第である。