

平井 康子 論文内容の要旨

主 論 文

Effects of nitric oxide on matrix metalloproteinase-2 production by rheumatoid synovial cells.

関節リウマチ患者由来滑膜細胞のマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP-2) 産生に対する一酸化窒素 (NO) の影響

平井康子、右田清志、本多靖洋、植木幸孝、山崎 聡、浦山 哲、蒲池 誠、川上 純、井田弘明、喜多雅子、福田孝昭、柴富和貴、河部庸次郎、青柳孝彦、江口勝美

Life Science • 68 巻 p913-920、2001 年

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻
(指導教授：江口勝美教授)

【緒 言】

関節リウマチ (RA) は、滑膜細胞の腫瘍性増殖とそれに伴う軟骨破壊を特徴とする慢性炎症性疾患である。RA の患者では、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) の滑膜での発現と血清中での上昇がみられる。細胞外マトリックス (ECM) を分解するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) は骨、軟骨破壊の中心的役割を果たしており RA 滑膜細胞局所での MMPs の産生は、RA の病態に密接に関わっている。また、RA 滑膜局所には、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の発現が亢進しており、iNOS 代謝をふくめた RA の病態への関与が示唆されている。今回、NO と MMPs の間のクロストークが存在するか、NO の RA 患者由来滑膜細胞の MMPs の産生に影響について調べた。

【対象と方法】

滑膜細胞は、同意を得られた RA 患者、変形性関節症 (OA) 患者から滑膜切除術の際分離した。この滑膜組織を、コラゲナーゼディスパーゼで酵素処理をして滑膜細胞を得た。3 継代目の培養滑膜細胞を用い、以下の実験を行った。滑膜細胞に、NO ドナーである S-ニトロソ-N-アセチル-DL-ペニシラミン- (SNAP) を 0 ~ 500 μ M の濃度で添加し、滑膜細胞の MMPs の産生に対する外因性 NO の影響を調べた。培養上清中の MMPs の検出は、ゲラチンザイモグラフィ、特異抗体を用いたイムノブロットで行った。滑膜細胞の MMP-2mRNA の発現は RT-PCR 法で調べた。

【結 果】

1. RA 滑膜細胞に SNAP (500 μ M) を添加すると、培養上清中にゲラチン分解能を有する 72kDa の蛋白を検出した。
2. イムノブロットの結果、この 72kDa の蛋白は MMP-2 であることが判った。
3. RA 滑膜細胞に SNAP を添加し、6 時間培養すると、MMP-2 の mRNA が発現した。
4. RA 滑膜細胞を SNAP 存在下で培養しても、培養上清中の TIMP-1、TIMP-2 の産生には変化がなかった。

【考 察】

多機能分子である一酸化窒素 (NO) は、炎症細胞に作用し、組織傷害や炎症を惹起することが知られている。慢性炎症性疾患である RA においても、血清、関節液中の濃度は上昇していることが知られている。滑膜細胞に発現した誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) により、多量に産生された NO は、細胞傷害に働くだけでなく、骨吸収につながる炎症分子を誘導している可能性が考えられる。

今回、RA の骨破壊に中心的役割を果たしているマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) に対する NO の影響を検討した。その結果、RA 滑膜細胞を、NO ドナーを用い外因性の NO で刺激すると MMP-2 の mRNA の発現が誘導され、MMP-2 の蛋白合成も確認された。一方、MMP の阻害蛋白である TIMP-1、TIMP-2 の産生には影響しなかった。NO が MMP-2 の転写にかかわっている AP-2 などに作用し、転写レベルで MMP-2 の発現を誘導している可能性も考えられた。また、NO が直接 MMP-2 を誘導しているのか、あるいはその代謝産物、関連分子が MMP-2 を誘導しているが、今後検討が必要と思われる。

以上の結果から、NO と MMP-2 の間にクロストークが存在し、NO は直接、骨・軟骨細胞に傷害性を示すだけでなく、MMP-2 などの骨吸収因子を誘導することで、骨破壊を誘導する作用を有していることが示唆された。