

Title	Enhanced Expression and DNA Binding Activity of Two CCAAT/Enhancer-Binding Protein Isoforms, C/EBP $\beta$ and C/EBP $\delta$ , in Rheumatoid Synovium
Author(s)	西岡, 克泰
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42567">https://hdl.handle.net/11094/42567</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	にし 西	おか 岡	かつ 克	ひろ 泰
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)			
学位記番号	第 1 6 0 6 0 号			
学位授与年月日	平成13年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科社会系専攻			
学位論文名	ENHANCED EXPRESSION AND DNA BINDING ACTIVITY OF TWO CCAAT/ENHANCER-BINDING PROTEIN ISOFORMS, C/EBP $\beta$ AND C/EBP $\delta$ , IN RHEUMATOID SYNOVIUM (慢性関節リウマチ滑膜における転写因子 C/EBP $\beta$ 、C/EBP $\delta$ の 活性化亢進)			
論文審査委員	(主査) 教授 吉崎 和幸			
	(副査) 教授 越智 隆弘 教授 金倉 謙			

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

慢性関節リウマチ (RA) は骨破壊を伴う多関節炎を主徴とする慢性炎症性疾患である。最近、その病態形成に転写因子 NF- $\kappa$ B や AP-1 が関与していることが報告され、治療上のターゲットとして注目されている。一方、C/EBP は、NF- $\kappa$ B や AP-1 と同様に炎症や免疫に関わる転写因子として知られているが、RA の病態形成への関与については、これまでほとんど報告がなされていない。しかしながら、IL-6、COX-2 などの RA の病態形成に関わると考えられる分子の遺伝子の転写調節領域に C/EBP の結合部位が存在することが知られており、これらの分子の発現を調節している可能性が示唆される。そこで、C/EBP の RA の病態形成への関与を明らかにし、C/EBP の発現又は活性化阻害による RA の治療の可能性を検討することを目的とする。

#### 【方法】

- (1)米国リウマチ学会の診断基準をみたす RA 患者から関節置換術の際に得られた滑膜組織より核蛋白を抽出しゲルシフトアッセイを行い C/EBP の DNA 結合活性を変形性関節症 (OA) と比較検討した。
- (2)RA 滑膜組織での C/EBP  $\beta$ 、 $\delta$  の発現、局在を免疫組織染色法を用いて検討した。
- (3)C/EBP  $\beta$  ノックアウトマウスを用いて RA の実験的関節炎モデルである Antigen-induced arthritis (AIA) を惹起し病理組織学的に比較検討した。
- (4)C/EBP の DNA 結合部位と同じ塩基配列をもつオリゴヌクレオチド (decoy) を HVJ-リボソームを用い滑膜細胞に導入することで C/EBP の DNA 結合を競合的に阻害し、COX-2 の発現に及ぼす影響を mRNA レベルで検討した。

#### 【結果】

- (1)RA 滑膜組織では OA 滑膜組織に比べて C/EBP  $\beta$  と  $\delta$  の DNA 結合活性が有意に亢進していた (mean  $\pm$  SEM arbitrary units [AU] 23.3  $\pm$  11.7 in RA versus 4.5  $\pm$  1.3 in OA,  $P < 0.05$ )。また、C/EBP の DNA 結合活性は患者の血清 CRP 値および滑膜局所での IL-6 mRNA の発現レベルと相関していた (CRP 値:  $r = 0.62$ ,  $P < 0.05$ , IL-6 mRNA:  $r = 0.60$ ,  $P < 0.05$ )。
- (2)免疫組織染色では、OA 滑膜の C/EBP  $\beta$  の発現は弱く、散在する傾向があったのに対し、RA 滑膜では滑膜表層細胞に強く発現がみられ、表層下細胞、リンパ濾泡、血管内皮細胞には、ほとんど発現がみられなかった。C

／EBP $\delta$ の発現パターンはRA滑膜、OA滑膜においてC／EBP $\beta$ と同様であった。さらに、CD14との二重免疫染色の結果、CD14陽性細胞（マクロファージ様滑膜細胞）、CD14陰性細胞（線維芽細胞様滑膜細胞）共にC／EBP $\beta$ 、 $-\delta$ の発現が認められた。

(3)C／EBP $\beta$ ノックアウトマウスとワイルドマウスにAIAを惹起し関節炎の重症度を比較したところ（関節炎スコア）、C／EBP $\beta$  $-\!-\!$ マウスではC／EBP $\beta$  $+\!+\!$ マウスに比べ有意に関節炎が抑制されていることが明らかになった（mean $\pm$ SEM2.78 $\pm$ 0.73 in C／EBP $\beta$  $+\!+\!$ mice versus 1.94 $\pm$ 1.06 in C／EBP $\beta$  $-\!-\!$ mice、 $P<0.05$ ）。

(4)decoyを導入した滑膜細胞では、コントロール（vectorのみ及び mismatch 導入の滑膜細胞）に比べCOX-2 mRNAの発現が有意に抑制されていた。

#### 【総括】

RA滑膜において転写因子C／EBP $\beta$ とC／EBP $\delta$ の発現、活性化の亢進を認めた。さらに、in vivo、in vitroにおいて、これらの転写因子がRAの病態形成に関与していることが示唆された。したがって、C／EBP $\beta$ 、C／EBP $\delta$ の発現および活性化の阻害がRAの治療の対象になりうると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究において、申請者は慢性関節リウマチ（RA）の滑膜局所における転写因子C／EBP $\beta$ 、 $-\delta$ の発現および活性化の亢進を明らかにし、これらの転写因子のRAの病態形成への関与を示した。さらに、in vivo、in vitroにおいて、C／EBP $\beta$ 、 $-\delta$ の発現および活性化阻害がRAの治療に有益であることを示唆した点においても評価できる。本研究の結果により、C／EBP $\beta$ 、 $-\delta$ の発現または活性化阻害による新規の治療法（遺伝子治療も含む）の可能性が示された。また、従来のRA治療薬や抗サイトカイン薬の薬理作用を明らかにする上でも貢献するものと考えられる。以上より、本研究は学位に値すると考えられる。