



Title	Enhanced Expression and DNA Binding Activity of Two CCAAT/Enhancer-Binding Protein Isoforms, C/EBP β and C/EBP δ , in Rheumatoid Synovium
Author(s)	西岡, 克泰
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42567
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	西岡克泰
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学 位 記 番 号	第 16060 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 β AND C/EBP δ , IN RHEUMATOID SYNOVIUM (慢性関節リウマチ滑膜における転写因子C/EBP β 、C/EBP δ 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 譲

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- κ 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- κ 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 β 、 δ の発現、局在を免疫組織染色法を用いて検討した。
- (3)C/EBP β 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-リポ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 β と δ 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 β 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 δの発現パターンは RA 滑膜、OA 滑膜において C／EBP β 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 β、- δの発現が認められた。

(3) C／EBP β 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 β -／-マウスでは C／EBP β +／+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±SEM 2.78±0.73 in C／EBP β +／+mice versus 1.94±1.06 in C／EBP β -／-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 β と C／EBP δ 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 β、C／EBP δ 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 β、- δ 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 β、- δ 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 β、- δ 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。