

Title	Transcriptional Complex Formation of c-Fos, STAT3, and Hepatocyte NF-1 $\alpha$ Is Essential for Cytokine-Driven C-Reactive Protein Gene Expression
Author(s)	松村, 哲平
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58960">https://hdl.handle.net/11094/58960</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/resource/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/resource/thesis/#closed"〉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

【117】

氏名	松村（西川） 哲 平
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 24896 号
学位授与年月日	平成23年9月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Transcriptional Complex Formation of c-Fos, STAT3, and Hepatocyte NF-1 $\alpha$ Is Essential for Cytokine-Driven C-Reactive Protein Gene Expression (c-FOS と STAT3、HNF-1 $\alpha$ の転写複合体形成がサイトカインによる CRP 遺伝子発現に必須である。)
論文審査委員	(主査) 教授 熊ノ郷 淳 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 竹田 潔

#### 論文内容の要旨

##### 〔 目 的 〕

CRPは、最も頻用される炎症マーカーであり、近年心血管イベントの予測因子としても注目されている。CRPの転写活性は、IL-6刺激により主に誘導され、IL-1により増強されるが、その発現増強機序はいまだ不明である。我々はIL-6阻害治療の臨床結果をもとに、急性炎症蛋白であるSAAの発現解析を行いNF- $\kappa$ B p65とSTAT3のクロストークによる新たな転写調節機序を報告している。我々はその知見をもとに、IL-6とIL-1によるCRPの転写増強機序を明らかにすることを目的とした。

##### 〔 方法ならびに成績 〕

肝癌由来のHep3B細胞を用い、pGL3-CRP(-942/+18)を使ったプロモーターアッセイ、リアルタイム定量的RT-PCRの系により、IL-6とIL-1刺激によるCRP発現の経時変化を検討した。

刺激後3時間では、従来の報告とは異なり、IL-1がIL-6のCRP誘導作用を阻害することを確認した。

CRPのプロモーター上にはSAAと異なり、STAT3の結合領域が報告されている。そこで、刺激後3時間でのNF- $\kappa$ B p65とSTAT3のクロストークの有無を検討したところ、NF- $\kappa$ B p65が容量依存性に、CRP発現を阻害することを確認した。STAT3を共発現した場合でも、NF- $\kappa$ B p65は容量依存性にSTAT3の転写増強作用を抑制した。一方NF- $\kappa$ B p50は、阻害作用を示さなかった。次に、刺激後12-24時間でのIL-1によるCRP発現増強作用の検討を行った。NF- $\kappa$ B p65が阻害的に働くことから、IL-1シグナルのもうひとつの下流であるMAPK (JNK, p38) の関与を、それぞれの阻害薬であるSB203580、SP600125を用いて検討したところ、刺激後12時間でのCRP発現が抑制された。しかし、CRPプロモーター上にはAP-1の結合領域は存在しない。AP-1の関与について、転写因子のCRP発現への関与を、共発現系、EMSA (Electro Mobility Shift Assay)、IP-Western blot、Chromatin-IP (ChIP) assay等の実験系を用いて解析を進めた。AP-1の構成因子c-Fosとc-Junを共発現させることによって、c-FosがCRP発現誘導に直接的に関与することを確認した。さらに、c-FosとSTAT3、HNF-1 $\alpha$ 間の相互作用をIP-western blotで確認した。EMSAとChIP assayを用いることによって、これらの転写因子がCRPプロモーター上に直接的に結合することを確認した。さらに、pGL3-CRP (-942/+18) のCRPプロモーター上の転写因子結合領域のmutantを用いて、c-FosがSTAT3結合領域とHNF-1 $\alpha$ 結合領域に作用することを見出した。

#### [ 総 括 ]

IL-1はIL-6によるCRPの発現誘導を刺激早期では阻害的に、刺激後期では相乗的に働く。サイトカイン刺激早期では、IL-1はNF- $\kappa$ B p65を活性化し、p65はSTAT3と結合することによってCRP発現に阻害的に働く。刺激後期では、c-FosとSTAT3、HNF-1 $\alpha$ などの転写因子の複合体形成がCRPの相乗発現に必須である。

#### 論文審査の結果の要旨

CRPは、最も頻用される炎症マーカーであり、その転写活性はIL-6刺激により主に誘導され、IL-1により増強されるが、その転写調節機序は不明であった。本論文ではIL-6とIL-1によるCRPの転写調節機序を明らかにすることを目的として解析を行った。

その結果、IL-1はIL-6によるCRPの発現誘導を刺激早期では阻害的、刺激後期では促進的に働くことが見出された。IL-6刺激早期におけるIL-1刺激は、NF- $\kappa$ B p65がSTAT3と結合するためCRP発現に阻害的に働くことが示唆された。一方、IL-6刺激後期では、IL-1によって活性化されるc-Fos、IL-6によって活性化されるSTAT3、サイトカイン刺激に依存せず肝細胞内で恒常的に活性化されているHNF-1 $\alpha$ の3者による転写因子複合体の形成がCRPの相乗発現に必須であることが見出された。

以上の内容により、本論文は博士(医学)の学位授与に値するものと認める。