Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Decoy receptor 3 regulates the expression of various genes in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts

Fukuda, Koji

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2014-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲第6005号
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006005

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

学位論文の内容要旨

Decoy receptor 3 regulates the expression of various genes in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts

デコイレセプター３はリウマチ滑膜線維芽細胞における
種々の遺伝子発現を制御する

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
整形外科学
（指導教員：黒坂　昌弘教授）
福田　康治

要旨

背景

Decoy receptor 3 (以下 DcR3)は TNF レセプタースーパーファミリーの一つで、Fas-L、LIGHT、TL1A をリガンドとする可溶型レセプターである。DcR3 は主に大腸癌、肺癌、神経膠腫などの腫瘍細胞で発現しているが、リウマチ滑膜線維芽細胞(rheumatoid synovial fibroblast 以下 RA-FLS)においても TNFα 刺激により過剰発現する。腫瘍細胞や RA-FLS における DcR3 の発現は、おとりレセプターとして Fas 誘導性アポトーシスを抑制することが報告されている。また近年 DcR3 がリガンドとしての直接作用を持つことが報告されており、我々は RA-FLS において DcR3 は細胞膜上の TL1A を介して炎症性サイトカインによる細胞増殖効果を抑制することを報告している。

しかし、RA-FLS における DcR3 のリガンド作用についての報告は未だ少なく、その機能は十分に明らかになっていない。そこで本研究では、RA-FLS において DcR3 により発現が制御される遺伝子プロファイルを検討して、DcR3 の関節リウマチ(rheumatoid arthritis 以下 RA)の病態形成への関与を解明することを目的として、網羅的遺伝子解析を行った。

材料と方法

全人工膝関節置換術を行った RA 患者 4 例の切除滑膜組織から RA-FLS を分離培養して研究に用いた。培養した RA-FLS を、それぞれの細胞株に対して DcR3-Fc あるいは対照として IgG1 で 12 時間刺激した後 total RNA を抽出し、microarray 法(Human Genome U133 Plus 2.0, GeneChip® 3' Expression Array; Affymetrix)を用いて遺伝子発現の差違を網羅的に検索した。検索された遺伝

している。

今回の実験で得られた、RA-FLS において DcR3 により発現が制御され、階層型クラスタリング解析を行った 100 遺伝子のうち、発現の変動が比較的高く、上位のクラスタリングカテゴリーに分類された遺伝子の中から、我々は cadherin 2 (CDH2), interleukin 12B (IL12B), tryptophan hydroxylase 1 (TPH1), centrosomal protein 70 kDa (Cep70), Zinc finger proteins に特に着目した。

CDH2 タンパクは細胞接着や遊走に関与し、さらに RA において骨芽細胞分化や細胞増殖に関与することが報告されている。IL12B は IL-12 と IL-23 の共通構成タンパクである IL12B p40 をコードする。IL-12 は Th1 を介して、IL-23 は Th17 を介して RA をはじめ自己免疫性疾患や炎症性疾患の病態に関与する。TPH1 はトリプトファンを水酸化してセロトニンを生合成する酵素である。RA においては、炎症性経路や骨代謝経路を介して病態に関与する報告がなされている。Cep70 タンパクは微小管の重合化を制御し、有糸分裂の際に重要な役割を果たす。Zinc finger proteins は二重鎖 DNA 結合やタンパク間結合に関与し、幅広い生物活動に関与する。

本研究により、RA-FLS において DcR3 が発現を制御する遺伝子プロファイルが明らかとなった。我々の過去の報告と合わせ、RA-FLS におけるこれらの遺伝子発現は DcR3-TL1A 経路を介したものと考える。今後、このプロファイルに含まれる候補遺伝子について更なる検討を行う必要があるが、DcR3 は TL1A を介して細胞増殖経路、アポトーシス経路、炎症経路、骨代謝経路などにより RA の病態に関与する可能性が示唆された。

本研究は、RA-FLS における DcR3 が発現を制御する遺伝子プロファイルを研究し、従来解明されていなかった DcR3 がその発現を制御して RA の病態に関与し得る新たな候補遺伝子について重要な知見を得たものとして価値ある

業績であると認める。

神戸大学大学院医学(系)研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2396 号	氏 名	福田 康治
論文題目 Title of Dissertation	Decoy receptor 3 regulates the expression of various genes in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts デコイレセプター3はリウマチ滑膜線維芽細胞における種々の遺伝子発現を制御する		
審査委員 Examiner	主 査 Chief Examiner 具 英成 副 査 Vice-examiner 平井 みどり 副 査 Vice-examiner 田中 健一		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

Decoy receptor 3 (以下 DcR3)は TNF レセプタースーパーファミリーの一つで、Fas-L、LIGHT、TL1A をリガンドとする可溶型レセプターである。DcR3 は主に腫瘍細胞で発現しているが、リウマチ滑膜線維芽細胞(rheumatoid synovial fibroblast 以下 RA-FLS)においても TNFa刺激により過剰発現し、おとりレセプターとして Fas 誘導性アポトーシスを抑制する。また近年 DcR3 のリガンド作用が報告され、研究者らは RA-FLS において DcR3 は細胞膜上の TL1A を介して炎症性サイトカインによる細胞増殖効果を抑制することを報告した。

しかし、RA-FLS における DcR3 のリガンド作用の報告は未だ少なく、その機能は十分に明らかでない。そこで本研究では、RA-FLS において DcR3 が発現を制御する遺伝子プロファイルを検討し、DcR3 の関節リウマチ(rheumatoid arthritis 以下 RA)の病態形成への関与を解明することを目的として、網羅的遺伝子解析を行った。

【対象と方法】

RA 患者 4 例の手術時切除滑膜組織から RA-FLS を分離培養した。培養した RA-FLS を、それぞれの細胞株に対して DcR3-Fc あるいは IgG1 で 12 時間刺激し、microarray 法(Human Genome U133 Plus 2.0, GeneChip® 3' Expression Array; Affymetrix)を用いて遺伝子発現の差違を網羅的に検索した。検索された遺伝子のうち有意に発現が変動(paired t-test, $p<0.05$)し、発現比が上位(fold change>1.4)の 100 遺伝子について階層型クラスタリング解析を行った。本研究の Microarray データは NCBIs Gene Expression Omnibus (GEO)に登録されており、アクセスナンバーGSE45665 で閲覧可能である。

【結果】

階層型クラスタリング解析を行った 100 遺伝子のうち、45 遺伝子は発現が増加し、55 遺伝子は発現が低下していた。発現が増加した遺伝子の機能には protein complex assembly, cell motility, regulation of transcription, cellular protein catabolic process, cell membrane, nucleotide binding, glycosylation を認め、発現が低下した遺伝子の機能には transcription regulator activity, RNA biosynthetic process, cytoskeleton, zinc finger region, protein complex assembly, phosphate metabolic process, mitochondrion, ion transport, nucleotide binding, cell fraction を認めた。

【考察ならびに結論】

階層型クラスタリング解析を行った 100 遺伝子のうち、発現比が高く、上位のクラスタリングカテゴリーに分類された遺伝子の中から、研究者らは cadherin 2 (CDH2), interleukin 12B (IL12B), tryptophan hydroxylase 1 (TPH1), centrosomal protein 70 kDa (Cep70), Zinc finger proteins に着目した。

CDH2 は細胞接着や遊走に関与し、RA において骨芽細胞分化や細胞増殖に関与する。

IL12B は IL-12 と IL-23 の共通構成タンパクである IL12B p40 をコードする。IL-12 は Th1、IL-23 は Th17 を介して自己免疫性疾患や炎症性疾患の病態に関与する。TPH1 はセロトニン合成酵素である。RA において炎症性経路や骨代謝経路を介して病態に関与する。Cep70 は微小管の重合化を制御し、有糸分裂に重要な役割を果たす。Zinc finger proteins は二重鎖 DNA 結合やタンパク間結合に関与し、幅広い生物活動に関与する。

本研究により、RA-FLS において DcR3 が発現を制御する遺伝子プロファイルが明らかとなった。研究者らの過去の報告と合わせ、RA-FLS におけるこれらの遺伝子発現は DcR3-TL1A 経路を介したものと考える。DcR3 は TL1A を介して細胞増殖経路、アポトーシス経路、炎症経路、骨代謝経路などにより RA の病態に関与する可能性が示唆された。

本研究は、RA-FLS における DcR3 が発現を制御する遺伝子プロファイルを研究し、従来解明されていなかった DcR3 がその発現を制御して RA の病態に関与し得る新たな候補遺伝子について重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。