

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 山本愛一郎

本研究は、慢性関節リウマチ(RA)の炎症関節での滑膜細胞活性化と骨破壊における細胞内情報伝達の役割を明らかにするため、アデノウィルスベクターを用いて遺伝子導入を行う系を用い、滑膜細胞活性化と骨破壊に対する細胞内情報伝達因子 Ras の抑制の効果を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1.細胞内情報伝達因子 Ras に対して抑制的な効果を持つ Ras<sup>DN</sup> タンパクの過剰発現の RA 滑膜細胞の増殖に対する影響を検討した。アデノウィルスベクターは滑膜細胞で Ras<sup>DN</sup> の発現を効率よく誘導し、Ras<sup>DN</sup> は RA 滑膜細胞の増殖を抑制した。この結果から RA 滑膜細胞の増殖において Ras が重要な役割を果たしていることが示された。

2.炎症性サイトカインインターロイキン 1 (IL-1) は RA の炎症反応において中心的な役割を果たし、細胞内で p38 MAPK、c-Jun N-terminal kinase (JNK) extracellular signal-regulated kinase (ERK)などのタンパクキナーゼカスケードを活性化する。IL-1 刺激による ERK, JNK, p38 の 3 つの MAPK の活性における Ras の役割を検討したところ、IL-1 が誘導した ERK, JNK, p38 の 3 つの

MAPK の活性化は Ras<sup>DN</sup>によりすべて抑制され、IL-1 による細胞内情報伝達において Ras が重要な役割を果たしていることが示された。

3.炎症性サイトカイン IL-6 は IL-1 とともに RA 滑膜細胞の増殖、活性化に関与する。Ras の抑制が RA 滑膜細胞における IL-1 誘導性の IL-6 産生に与える影響を検討した。ノザンブロットでは、Ras<sup>DN</sup>の過剰発現により、IL-1 刺激後の細胞内 IL-6 mRNA の産生が抑制された。ELISA 法では、Ras<sup>DN</sup>の過剰発現により、滑膜細胞の自発的な IL-6 産生および IL-1 誘導性の IL-6 産生がともに抑制された。Ras の抑制により RA 滑膜細胞 の IL-6 産生が転写レベルおよび蛋白レベルで抑制されることが示された。

4. In vivo での、Ras の抑制の RA 滑膜細胞活性化と炎症性骨破壊に対する効果を検討するため Ras<sup>DN</sup>ウィルスを RA のモデル動物であるアジュバント関節炎ラットの足関節内に投与したところ、炎症関節の軟部組織の炎症及び破骨細胞による骨破壊がともに抑制されること示された。

以上、本論文は RA の炎症関節での滑膜細胞活性化と骨破壊において、細胞内情報伝達因子 Ras が果たす役割をアデノウィルスベクターにより遺伝子導入を行う系を用いて明らかにしたものである。本研究はこれまでに未知に等しかった RA の炎症反応における Ras の役割の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。