

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 櫻井 大祐

本研究は関節リウマチ (RA) 病態に関わる遺伝子を検索し、その分子がどのような機能を持ち、病態と関わっているかを明らかにするために行なわれたものであり、下記の結果を得ている。

1. RA および変形性関節症 (OA) の滑膜組織から totalRNA を抽出し、differential display 法を用いて遺伝子発現解析を行なった結果、RA 滑膜で遺伝子発現が増強する 20 個の遺伝子断片を検出した。そのうちの一つに *ID1* 遺伝子を見出し、患者複数検体における半定量的 RT-PCR の結果、*ID1* 以外にも *ID3* および *ID4* 遺伝子が RA 患者滑膜において発現増強することを確認した。*ID1* および *ID3* に関しては免疫組織染色により滑膜組織の中でも血管内皮細胞に局在することがわかった。
2. *ID* 分子の血管内皮細胞における機能を明らかにするために、ヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞 (HUVEC) を用いて実験を行なった。*ID* 遺伝子が生理学的にどのような刺激で発現上昇するのかを調べるために、RA 滑膜内での発現増強が確認されている複数のサイトカインで HUVEC を刺激したところ、VEGF および TGF- β 刺激下での発現誘導が確認された。*ID3* 遺伝子をベクターを用いて HUVEC に強制発現させたところ、細胞増殖能の増強、ICAM-1 および E-selectin の発現増強に加え、遊走能の活性化、MMPs の産生増強、管空形成能の増強といった血管新生表現形の亢進が認められた。*ID1* 強制発現に関してもほぼ同様の結果が得られ、以上から *ID* 遺伝子の発現誘導のみによって血管内皮細胞の活性化、血管新生の誘導が起こりうることが示された。
3. *ID* 発現を阻害したときに HUVEC の活性化が得られるかどうかを確かめるために、*ID1/ID3* sh(short hairpin)RNA 発現ベクターを用いて HUVEC 内の *ID1/ID3* 発現を抑制を行なった。このトランスフェクタントに対して VEGF で刺激を行なったところ *ID* 遺伝子の発現は誘導されず、細胞増殖の活性化は認められず、ICAM-1 や E-selectin に加え αv インテグリンの発現も抑えられた。細胞遊走や $\alpha 2 \beta 1$ インテグリンの発現、MMPs の産生、管空形成といった *in vitro* の血管新生表現型も *ID* の発現抑制によって阻害された。

以上本論文は関節リウマチの病態に関連する分子として新たに *ID* 遺伝子を同定した。*ID* 遺伝子は VEGF によって誘導される血管内皮細胞の活性化および血管新生において重要な働きをしており、この発現を抑えることによって血管新生を阻害できることを示唆した。この知見は関節リウマチの病態解明のみならず、血管新生を伴うような疾患全般に対する新たな治療標的を提起するものであり、その貢献度から学位の授与に値するものと考えられる。