

## 류마티스관절염에서 tumor necrosis factor- $\alpha$ 에 의한 윤활막 증식에 관여하는 유전자 탐색

허성진, 윤지희

한양대학교 의과대학 해부·세포생물학교실

**간추림** : 만성 류마티스관절염 환자의 관절 윤활막에서 나타나는 조직의 증식(hyperplasia)은 윤활막세포의 증식(proliferation)과 세포사멸(apoptosis) 기전간의 비정상적 조절에 의한다. 윤활막의 증식 현상을 분자적 수준에서 이해하기 위하여, cDNA microarray 방법을 이용하여 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직에서 대조군인 뼈관절염 환자의 윤활막 조직에 비해 특이적으로 발현이 조절되어 있는 유전자를 탐색하였다. 뼈관절염 환자의 윤활막 조직에 비해 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직에 TNFR2, GRB-2, RBL2, CDC25B, MAPK p38, CDK-like kinase 2, CCND3, FLICE2와 같은 유전자 발현이 증가하였고 SARP-1, CCNG1, CDC16HS, Cyclin H, CDK-inhibitor 1C 등의 유전자 발현은 감소하였다. 중요한 점은, 이들 중 GRB2와 FLICE2는 류마티스관절염 환자에서 얻은 윤활막세포를 tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ 로 자극하여 발현을 유도할 수 있었다. 하지만, 뼈관절염 환자의 윤활막세포는 TNF- $\alpha$  자극에 의하여 이들 유전자의 발현을 증가시키지 않았다. 그러므로, GRB2와 FLICE2는 류마티스관절염 환자의 윤활막세포에서 정상 윤활막세포와는 다른 TNF- $\alpha$  신호 전달 과정을 매개하는 물질에 속하는 것으로 생각된다. 또한, GRB2와 FLICE2가 세포의 성장과 죽음에 중요한 물질임을 고려해 볼 때, 본 연구 결과는 이들 두 물질이 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직의 증식 경로를 조절하는데 결정적인 역할을 할 것임을 제시하고 있다.

**찾아보기 낱말** : 류마티스관절염, 증식, TNF- $\alpha$ , GRB2, FLICE2

### 서론

류마티스관절염(rheumatoid arthritis)은 주로 관절 조직에의 염증세포의 침윤, 새혈관 형성, 윤활막의 증식(hyperplasia) 등을 특징으로 하는 만성 염증성 자가면역질환이다. 정상인의 윤활막 조직은 관절피막을 싸는 한 층의 얇은 막으로 구성되어 있는 반면, 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직은 여러 세포 층으로 팽창되어 'pannus'라는 종양 같은 구조체로 형질이 전환되어 주변의 물렁뼈와 뼈 조직을 침범하는 파괴력을 가진다(Pope 2002). 류

마티스관절염 환자에서 발견되는 증식은 관절조직 속으로 침윤된 활성화된 큰포식세포와 과립백혈구 및 림프구에서 전염증 사이토카인인 tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$  및 IL-6와 막결합인자인 Fas ligand (FasL) 및 CD40L가 발현 또는 분비되어 주변의 윤활막 섬유모세포(fibroblast-like synoviocytes, FLS)를 증식시켜 나타나는 것으로 알려졌다(Feldmann 등 1996). 이런 조절물질들에 의한 영향과 아직 잘 구명 안된 유전적 요인들이 복합적으로 작용함에 의해 윤활막세포는 비가역적으로 변화되어 반-형질전환(semi-transformation)된 양상을 갖게 되며, 윤활막세포의 증식 촉진과 세포사멸의 장애로 윤활막 조직에서 증식이 일어나는 것으로 추정된다.

TNF- $\alpha$ 는 류마티스관절염 환자 윤활막 조직에

\*본 연구는 한양대학교 교내연구비(2001년) 지원 하에 수행되었음.

교신저자: 윤지희(한양대학교 의과대학 해부·세포생물학교실)  
전자우편: jhyoun@hanyang.ac.kr

염증 반응의 산물로 증가된 물질 중 가장 강력한 전염증 사이토카인 중의 하나이다. TNF- $\alpha$ 는 특정 수용체(receptor)에 결합하여 그 신호를 세포 내로 전달하는데, 세포 종류와 결합하는 수용체에 따라서 서로 상반된 신호를 전달하게 된다. 제1형 TNF- $\alpha$  수용체(TNFR1)는 caspase 경로를 활성화시켜 결국 TNF- $\alpha$ 로 자극된 세포를 세포사멸(apoptosis)에 빠지게 하는 반면, TNFR2를 통하면 NF- $\kappa$ B를 활성화시켜 항세포사멸(anti-apoptosis)과 세포 증식을 일으키는 것으로 알려져 있다(Tracey와 Cerami 1993). 류마티스관절염 환자에서 얻은 윤활막 섬유모세포는 세포사멸을 일으키기보다는 증식반응을 보였다(Jaxne 등 1988). 흥미롭게도, 이런 현상은 정상인이나 뼈관절염(osteoarthritis) 환자의 윤활막 섬유모세포에서는 일어나지 않았다. 그러므로, TNF- $\alpha$ 는 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포내에서 정상 세포와는 다른 신호전달 경로를 활성화 시킴에 의하여 윤활막 증식에 기여하는 병적 인자로 생각된다. 류마티스 관절염 환자의 윤활막 섬유모세포에서 TNF- $\alpha$  자극에 반응하여 TNFR2와 TNF receptor associated factors (TRAFs)의 발현이 뼈관절염 환자의 윤활막 섬유모세포보다 현저히 증가되었다는 보고는 이런 가정과 잘 부합된다(Youn 등 2002). 그러나, TNFR2와 TRAFs 이외에 다른 어떤 물질들이 류마티스 관절염에 특이적으로 TNF- $\alpha$  신호의 차별성을 만들어 주는지에 대하여서는 잘 알려진 바가 없다.

본 연구에서는 류마티스관절염 환자의 윤활막 증식에 관여하는 TNF- $\alpha$  매개 유전자를 발굴하고 이들 유전자의 발현이 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포에서 특이적으로 조절되는지를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 세포 배양

윤활막 섬유모세포는 앞서 보고한 바대로 윤활막 조직에서 추출하여 배양하였다(Zhang 등 1997). 간략하면, 윤활막 조직을 가위로 잘게 자른 후,

0.05% collagenase (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 섭씨 37도에서 2시간 동안 처리하여 세포를 추출하였다. 분리된 세포를 여러 번 세척하고 섭씨 37도 5% CO<sub>2</sub> 상태에서 배양하였다. 배지로는 10% fetal bovine serum, 100 units/ml penicillin, 100  $\mu$ g/ml streptomycin, 50  $\mu$ M 2 mercaptoethanol, and 2 mM L-glutamine (모두 GIBCO, Grand island, NY, USA)을 첨가한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, JBI, Daegu, Korea)을 사용하였다. 하루밤 배양 후에 배지를 교환함에 의하여 부유세포(non-adherent cells)를 제거하고 부착성 세포(adherent cells)를 계속 키워 윤활막 섬유모세포의 세포주(cell lines)를 얻었다. 3~8번 계대배양한 세포를 본 실험에 사용하였다.

### 2. cDNA microarray 분석

각각 2명의 류마티스 환자와 뼈관절염 환자에서 윤활막 조직을 얻었다. 조직은 액체 질소에 급냉하여 막자사발에 갈았으며 TRIzol 시약(Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)을 넣고 균질화하였다. 이 균질화된 세포 용해질(lysate)에서 모든 RNA를 순수분리 하였다. 각 시료로부터 얻은 RNA 2.5  $\mu$ g을 주형으로 사용하여 <sup>32</sup>P로 표지된 cDNA probe를 합성하였다(Clontech, Palo Alto, CA, USA). 각 probe는 205 가지 세포사멸 관련 유전자의 cDNA가 점(spot) 모양으로 부착되어 있는 Atlas human apoptosis array membrane(Clontech)에 반응시켰다. 막(membrane)을 세척한 뒤 phosphoimager system(Fuji, Tokyo, Japan)을 이용하여 각 점의 방사능 양을 시각화하였다. 각 점의 강도는 TINA 2.09 분석 프로그램을 이용하여 분석하였다. 보정을 위하여, 각 점의 평균값을 9가지 housekeeping 유전자들의 평균값으로 나눴다. 이렇게 얻어진 값이 류마티스 환자와 뼈관절염 환자 조직 간에 2배 이상의 차이를 보이는 점을 선택하였다. 모든 실험결과는 두 번 이상의 반복 실험을 거쳤다.

### 3. RT-PCR

류마티스 관절염 환자와 뼈관절염 환자에서 얻

은 섬유모세포 세포주를 10 ng/ml의 TNF- $\alpha$ 로 6시간 동안 자극한 뒤 모든 RNA를 순수분리하였다. 2  $\mu$ g의 RNA에 5  $\mu$ g/ml random hexamer, 1 mM dNTPs, 0.43 unit/ $\mu$ l avian myeloblastosis virus reverse transcriptase XL와 0.5 unit RNase inhibitor (TAKARA, Shiga, Japan)를 넣고 섭씨 42도에서 30분 동안 반응하여 cDNA를 만들었다. 시료 간의 유전자 발현 정도를 비교분석하기 위하여, 이 cDNA를 주형으로 사용하여 PCR 반응을 하였다. PCR은 0.25  $\mu$ M의 유전자 특이 primers, 0.25 mM dNTP, 0.15 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 unit Taq DNA polymerase (TAKARA)를 포함하는 용액에서, 섭씨 94도에서 30초, 55도에서 45초, 72도에서 45초를 30회 반복함에 의하여 실행되었다. PCR에 사용한 primer의 염기서열은 다음과 같다. GAPDH (sense), 5'-AAT CCC ATC ACC ATC TTC CA-3'; GAPDH (anti-sense), 5'-CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG-3'; GRB2 (sense), 5'-TAG AAC AGG TGC CAC AGC AG-3'; GRB2 (anti-sense), 5'-TGT TCT GCA CTC CCT CAC AG-3'; FLICE2 (sense), 5'-GGT TGG AAC ATT

TCA GTT GCC A-3'; FLICE2 (anti-sense), 5'-TCA AGG CGT CCT TAC AGA GCC A-3'.

## 결 과

### 1. 류마티스관절염 환자 윤활막에 선별적으로 발현되는 세포사멸 관련 유전자 검색

류마티스 환자의 윤활막 증식에 관여하는 유전자를 발굴하기 위하여, 류마티스 관절염 환자의 윤활막에서 205가지 세포사멸 관련 유전자의 발현 양상을 cDNA microarray 방법을 이용하여 대조군인 뼈관절염 환자의 윤활막의 발현 양상과 비교 분석하였다. 2배 이상의 발현 정도의 차이를 보이는 유전자를 선택하였다. 류마티스 관절염 환자의 윤활막에서 TNFR2, GRB2, RBL2, CDC25B, MAPK p38, CDK-like kinase 2, CCND3, FLICE2와 같은 8개의 유전자의 발현이 증가되었음이 관찰되었다 (Table 1). 반면에 SARP1, Cyclin H, CDK-inhibitor 1C, CDC16HS, CCNG1 등 5가지 유전자의 발현이

**Table 1.** Genes upregulated in RA

Genes	RA <sup>1</sup>	OA <sup>1</sup>	Ratio <sup>2</sup>	Putative function
TNFR2	14	7	2	Death receptors, intracellular transducers, effectors and modulators Growth factor, chemokine receptors, cell surface antigens and death domain receptors
	18	1	18	
GRB2	49	24	2	Intracellular adaptors and receptor-associated protein Death receptor-associated proteins and adaptors
	102	24	4.3	
RBL2	6	2	3	Oncogenes tumor suppressors, intracellular transducers, effectors and modulators
	100	4	25	
CDC25B	8	3	2.7	Other cell cycle proteins Intracellular protein phosphatases
	16	3	5.3	
MAPK p38	3	<1	>3	Intracellular kinase network members Cell cycle-regulating kinases
	6	2	3	
CDK like kinase2	7	2	3.5	Cell cycle-regulating kinases Intracellular kinase network members
	12	5	2.4	
CCND3	6	<1	>6	Cyclins
	13	7	1.8	
FLICE2	36	18	2	Caspase 10 and Cystein protease
	85	24	3.5	

<sup>1</sup>Arbitrary values representing the intensity of each spot divided by the mean of intensity of 9 housekeeping genes.

<sup>2</sup>Ratios of RA versus OA.

**Table 2.** Genes downregulated in RA

Genes	RA <sup>1</sup>	OA <sup>1</sup>	Ratio <sup>2</sup>	Putative function
Cyclin H	2	5	2.5	Cyclins
	1	38	38	Kinase activators and inhibition
CDK inhibitor 1C	4	18	4.5	CDK inhibitors
	8	2	7.5	kinase activators and inhibition
CDC16HS	1	5	5	Other cell cycle proteins
	<1	15	>15	
CCNG1	3	6	2	Cyclins
	2	44	2.2	
SARP1	<1	15	>15	Death receptors ligands
	1	10	10	Other extracellular communication proteins

<sup>1</sup>Arbitrary values representing the intensity of each spot divided by the mean of intensity of 9 housekeeping genes.

<sup>2</sup>Ratios of rheumatoid arthritis (RA) versus osteoarthritis (OA).

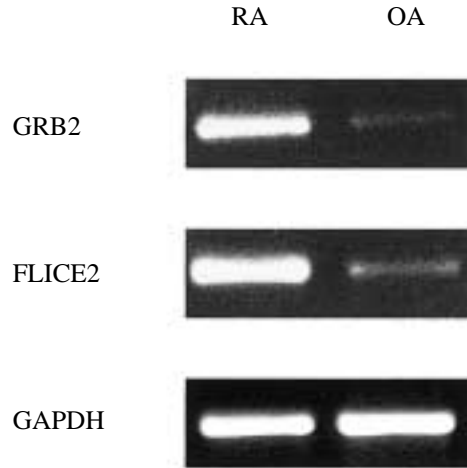
감소하였다 (Table 2).

## 2. 류마티스관절염 환자 윤활막에서 GRB2와 FLICE2 발현의 증가

Microarray 결과 류마티스관절염 환자의 윤활막에서 발현이 조절된 유전자 중 TNF- $\alpha$  신호와 관련이 있는 growth factor receptor-bound protein 2 (GRB2)와 Fas-associated death domain protein interleukin-1 $\beta$ -converting enzyme 2 (FLICE2)의 발현을 RT-PCR 방법으로 확인하였다. TNFR2의 증가는 본 연구실에서 보고한 바가 있어서 생략하였다 (Youn 등 2002). GRB2와 FLICE2 전사량은 두 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직에서 모두 두 뼈관절염 환자의 윤활막 조직에 비해 현저히 증가되었다 (Fig. 1). 그러므로, 이 RT-PCR 결과는 적어도 GRB2와 FLICE2에 대한 microarray 결과에 잘 합쳐졌다.

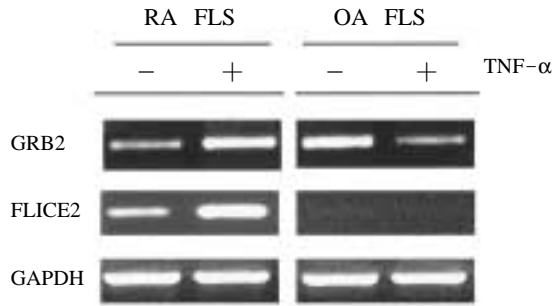
## 3. 류마티스관절염 환자의 섬유모세포에 특이적인 TNF- $\alpha$ 신호

TNF- $\alpha$ 는 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직에 과량 증가된 전염증 사이토카인이며 윤활막 증식에도 지대한 공헌을 하리라 생각된다. 실제로 류



**Fig. 1.** RT-PCR analysis to confirm differential expression of genes between rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA) synovial tissues. RNA was isolated from RA and OA synovial tissues and RT-PCR was performed using primers specific for GRB2, FLICE2, and GAPDH.

마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포는 뼈관절염 환자의 윤활막 섬유모세포와는 다르게 TNF- $\alpha$ 에 반응하여 세포분열 촉진과 자멸사 장애의 결과를 초래하였다 (Youn 등 2002). 이런 세포반응의 양상이 TNF- $\alpha$ 에 의한 GRB2와 FLICE2 발현 유도 차이에서 오는 것인지를 알아보기 위하여, 각각 두 세포주의 류마티스관절염 환자 윤활막 섬유모세포와 뼈관절염 환자 윤활막 섬유모세포에 TNF- $\alpha$ 를 첨가하여 배양한 후 유전자 발현 양상을 RT-PCR로 관찰하였다. TNF- $\alpha$ 를 처리하지 않은 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포에서 GRB2와 FLICE2 전사물은 각각 소량 관찰되었다. TNF- $\alpha$  처리에 따라 두 전사물 양은 현저히 증가하였다. 하지만, 뼈관절염 환자의 윤활막 섬유모세포에서는 TNF- $\alpha$  자극의 의하여 GRB2의 발현양은 현저히 감소되었고 FLICE2 전사물은 TNF- $\alpha$  자극과 상관없이 관찰되지 않았다 (Fig. 2). 그러므로, TNF- $\alpha$ 는 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포에서 정상 섬유모세포와는 다르게 GRB2와 FLICE2의 발현을 촉진하였다.



**Fig. 2.** Differential gene expression in RA and OA fibroblast-like synoviocytes (FLS) upon stimulation with TNF- $\alpha$ . RA and OA FLS were cultured for 6 hours in the presence or absence of 10 ng/ml TNF- $\alpha$ . RT-PCR was performed using primers specific for GRB2, FLICE2, and GAPDH serving as a control.

## 고 찰

최근의 연구 결과는 윤활막조직의 증식(hyperplasia)은 세포 증식(proliferation) 반응의 증가와 세포사멸의 장애의 복합적 작용으로 일어남을 제시하고 있다. 그러나 이런 세포 반응을 조절하는 세포 내 신호 전달 인자에 대한 연구는 미비하였다.

본 연구에서 우리는 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직에 발현이 선별적으로 조절된 유전자를 탐색하였다. 그 중에서도 특히 GRB2와 FLICE2의 증가는 류마티스 관절염 환자의 윤활막 섬유모세포를 TNF- $\alpha$ 로 자극하였을 때에도 일관성 있게 관찰되었다. 이런 증가는 뼈관절염 환자의 윤활막 섬유모세포에서는 관찰할 수 없었다. 이상의 결과는 류마티스 관절염 환자의 윤활막 섬유모세포가 정상 세포에 비하여 동일한 TNF- $\alpha$  자극에 대하여 GRB2와 FLICE2 등에 의하여 매개되는 더 증폭된 신호를 세포 내 전달함을 시사한다. 그러므로, 류마티스 관절염 환자의 윤활막 섬유모세포는 정상 섬유모세포와는 다른 세포 내 내재적 변화를 포함하고 있으며 이는 TNF- $\alpha$ 에 대하여 변형된 신호 전달 경로 및 결과로 구체화된다고 추정된다.

GRB2는 tyrosine kinase 수용체에 결합하는 adaptor 물질로 Ras와 그 하위 MAP kinase 경로를 활성화

화하는데 관여한다(Buday와 Downward 1993, Yamazaki 등 2002). MAP kinase의 세포 증식에의 중요성에서 미루어 볼 수 있듯이, 암세포에서 GRB2 기능의 억제 는 세포 증식 장애를 초래하였다(Xie 등 1995, Tari 등 2001). 그러므로, 류마티스 관절염 환자의 윤활막 조직에 증가된 GRB2는 그 조직의 증식에 결정적인 역할을 했으리라 추정된다. 하지만, TNF- $\alpha$ 에 의하여 GRB2 발현이 증가하는 기전에 대하여서는 더 연구해야 할 것이다.

FLICE2(caspase 10)가 어떻게 윤활막 조직의 증식에 기여하는지에 대하여서는 해석하기가 쉽지 않다. FLICE2는 TNFR1 뿐만 아니라 Fas와 TNF-related apoptosis-inducig ligand (TRAIL) 수용체에도 동원되는 신호전달 물질이기 때문이다(Vincenz와 Dixit 1997, Sprick 등 2002). 본 실험 결과를 통해 TNF- $\alpha$ 에 의하여 유도된 FLICE2가 윤활막 증식에 양성적(positive) 역할을 할지 음성적 역할을 할지에 대하여서는 알 수 없다. 다만, 발현이 증가된 FLICE2는 류마티스 관절염 환자의 섬유모세포의 TRAIL과 Fas에 대한 민감성을 증가시키는 효과를 가져오리라 추정된다. 기존에 뼈관절염 환자의 윤활막 섬유모세포는 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포와는 다르게 Fas에 대하여 반응을 보이지 않았는데, 두 세포 상의 Fas 발현 정도는 차이가 없었음이 보고된 바 있다(Nakajima 등 1995). 또한, 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포가 뼈관절염 환자의 윤활막 섬유모세포보다 TRAIL 매개 세포사멸에 더 민감함이 보고되었다(Cho 등 2001). 본 연구 결과는 기존의 보고에서 보인 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포와 뼈관절염 환자의 윤활막 섬유모세포간의 Fas 및 TRAIL에 대한 반응성의 차이가 FLICE2 발현의 차이에서 기인할 수 있음을 시사하고 있다.

종합적으로, 본 연구 결과는 류마티스관절염 환자의 윤활막 조직 증식에서 윤활막 섬유모세포는 TNF- $\alpha$  신호를 수용하는 주된 작동자(effector) 세포로 작용함을 보였다. 또한 TNF- $\alpha$  신호 경로는 류마티스관절염 환자의 윤활막 섬유모세포에서 정상 세포와는 다르게 형질전환되었으며, GRB2와 FLICE2가 그 변형된 신호를 전달하는데 관여하는 것으로

추정된다.

## 참 고 문 헌

- Buday L, Downward J : Epidermal growth factor regulates p21ras through the formation of a complex of receptor, Grb2 adapter protein, and SOS nucleotide exchange factor. *Cell* 73 : 611-620, 1993.
- Cho WG, Leem HS, Paik DJ, Chung HS, Kim WK, Choi CH, Youn J : Selective susceptibility of synovial fibroblasts isolated from patients with rheumatoid arthritis to TRAIL-induced cell death. *Kor J Physical Anthropol* 14 : 273-280, 2001.
- Feldmann M, Brennan FM, Mainil RN : Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 14 : 397-440, 1996.
- Gitter BD, Labus JM, Lee SL : Characteristics of human synovial fibroblast activation by IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ . *Immunology* 66 : 196-200, 1989.
- Jaxne T, Heinegard D PMA, Talal N, Wollheim FA : Detection of tumor necrosis factor- $\alpha$  but not tumor necrosis factor- $\beta$  in theumatoid arthritis synovial fluid and serum. *Arthritis Rheum* 31 : 1041-1045, 1988.
- Nakajima T, Aono H, Hasunuma T, Yamamoto K, Shirai T, Hirohata K, Nishioka K : Apoptosis and functional Fas antigen in rheumatoid arthritis synoviocytes. *Arthritis Rheum* 38 : 485-491, 1995.
- Pope RM : Apoptosis as a therapeutic tool in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol* 2 : 1-9, 2002.
- Sprick MR, Rieser E, Stahl H, Grosse-wilde A, Weigand MA, Walczak H : Caspase-10 is recruited to and activated at the native TRAIL and CD95 death-inducing signaling complexes in FADD-dependent manner but can not functionally substitute caspase-8. *EMBO J* 21 : 4520-4530, 2002.
- Tari AM, Lopex-Berestein G : GRB2 : a pivotal protein in signal transduction. *Semin Oncol* 28 : 142-147, 2001.
- Tracey KJ, Cerami A : Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. *Annu Rev Cell Biol* 9 : 317-343, 1993.
- Vincenz C, Dixit VM : Fas-associated death domain protein interleukin-1 $\beta$ -converting involved in CD95- and p55-mediated death signaling. *J Biol Chem* 272 : 6578-6583, 1997.
- Xie Y, Pendergast AM, Hun MC : Dominant-negative mutants of Grb2 induced reversal of the transformed phenotypes caused by the point mutation-activated rat HER-2. *Neu J Biol Chem* 270 : 30717-30724, 1995.
- Yamazaki T, Zaal K, Hailey D, Presley J, Lipincott-Schwartz J : Role of Grb2 in EGF-stimulated EGFR internalization. *J Cell Sci* 115 : 1791-1802, 2002.
- Youn J, Kim HY, Park JH, Hwnag SH, Lee SY, Cho CS, Lee SK : Regulation of TNF- $\alpha$ -mediated hyperplasia through TNF receptor, TRAFs, and NF- $\kappa$ B in synoviocytes obtained from patients with rheumatoid arthritis. *Immunol letters* 83 : 85-93, 2002.
- Zhang HG, Blackburn WD Jr, Minghetti PP : Characterization of a SV-40 transformed rheumatoid synovial fibroblast cell line which retains genotypic expression patterns: a model for evaluation of anti- arthritis agent in vivo. *Cell Dev Biol* 33 : 37-41, 1997.

Korean J Phys Anthrop  
16(2): 89 ~ 95, 2003

**Abstract**

## **Screening of Genes Regulating TNF- $\alpha$ -mediated Synovial Hyperplasia in Rheumatoid Arthritis**

Sung-Jin Huh, Jeehee Youn

*Department of Anatomy & Cell Biology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea*

Chronic rheumatoid arthritis (RA) is characterized by the hyperplasia of synovial tissue, which results from the combined influence of the proliferation and antiapoptosis of the synovial cells. In this study, to identify candidate factors involved in the regulation of synovial hyperplasia, the expression profile of 205 apoptosis-related genes in a rheumatoid synovium was analyzed in comparison with that in an osteoarthritis (OA) synovium using a cDNA microarray. Upregulated genes in the RA synovium include TNFR2, GRB2, RBL2, CDC25B, MAPK p38, CDK-like kinase 2, and FLICE2, whereas 5 genes including SARP1 were down-regulated relative to OA. Among them, importantly, the expression levels of GRB2 and FLICE2 genes were remarkably enhanced in RA but not OA synoviocytes in response to TNF- $\alpha$  treatment. Therefore, TNF- $\alpha$  inducibility to GRB2 and FLICE2 genes abnormally enhanced in RA synoviocytes might represent the increased transcripts of these two genes in rheumatoid synovial tissues. Moreover, these results suggest that RA-specific signals by TNF- $\alpha$ , including GRB2 and FLICE2, are involved in the pathogenic processes of synovial hyperplasia.

**Key words** : Rheumatoid arthritis, Hyperplasia, TNF- $\alpha$  GRB2, FLICE2