

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 松田道隆

本研究は IL-6 ファミリーであるオンコスタチン M (OSM) の肝線維化における役割を明らかにするため、OSM ノックアウト (OSM KO) マウスを用いた既知の慢性肝障害モデルの検討、新規に樹立したマウス肝特異的なオンコスタチン M 持続発現系を用いた解析、およびマウス肝構成細胞の細胞特異的表面マーカーを用いた単離・培養系による細胞間相互作用の解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 既存のマウス肝線維化誘導モデル、すなわち四塩化炭素反復投与、チオアセタミド長期投与 (TAA)、胆管結紮モデルのいずれにおいても、繊維蓄積量の増加、線維化関連遺伝子の発現上昇とともに OSM の発現量が上昇している事を確認した。一方 OSM KO マウスで TAA により線維化を誘導すると、野生型に比して線維化が有意に軽減する事を示した。この時線維関連遺伝子 Type1 Collagen、Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (Timp1) の発現量も低下しており、肝線維化促進の主体である肝星細胞の活性状態に差があると考えられた。
2. Hydrodynamic tail vein injection (HTVi)法により野生型マウス肝で OSM を持続的に発現させると、著明な肝線維化が誘導された。この時、Type1 Collagen、Timp1 の発現も誘導されており、これらの発現量と OSM の肝での発現量との間には正の相関がある事を示した。また、HTVi 法による Timp1 の肝での持続発現のみでは肝線維化は誘導には不十分であり、OSM による線維化誘導には Type1 Collagen と Timp1 の協調作用があると考えられた。
3. TAA モデルで線維化の軽減があるにも関わらず、肝障害マーカーである肝逸脱酵素や H&E 染色における組織壊死範囲には差が無い事、OSM-HTVi で著明な線維化を来すにもかかわらず肝逸脱酵素の上昇や H&E 染色で肝壊死組織像を認めない事、OSM レセプターは肝細胞にほとんど発現せず非実質細胞群に発現している事から、OSM の肝線維化誘導は肝細胞障害を誘導した

結果の二次的なものではなく非実質細胞群への直接作用である可能性を示した。

4. 野生型正常肝から単離した肝星細胞の初代培養系で OSM を作用させると、肝星細胞における筋線維芽細胞様の形態変化と Timp1 発現が著明に誘導されたが、Type1 collagen は誘導されなかった。しかし OSM 添加条件下での肝マクロファージ初代培養系の上清は、肝星細胞における Type1 collagen の発現誘導能を示した。また HTVi により OSM 持続発現させた肝から単離した肝マクロファージの初代培養上清にも同様の作用がある事を示した。これらのマクロファージでは既知の線維源性サイトカインである TGF- β や PDGF-B の発現が上昇している事を示した。一方で OSM 刺激した類同内皮細胞培養の上清には星細胞における Type1 collagen 誘導能がない事を示した。
5. TAA モデルにおいて肝に存在するマクロファージのうち、FACS で F4/80^{hi} CD11b^{mid} である肝常在性マクロファージの比率は正常時よりも減少し、一方で F4/80^{lo} CD11b^{hi} である骨髄由来マクロファージは肝内に流入し増加する事を示した。その比率は野生型と OSM KO マウスでは差が無いが、それぞれのマクロファージ分画を単離し遺伝子発現を解析すると、OSMKO の BMDM で TGF- β の発現量が有意に低下していることを示した。

以上、本論文は OSM が重要なマウス肝線維化促進因子である事を明らかにし、そのメカニズムとして肝星細胞に対する直接的な Timp-1 誘導能と、肝マクロファージからの液性因子を介した星細胞での Type1 collagen 誘導能との協調作用がある事を示した。特に肝マクロファージの中でも、肝常在性マクロファージよりも骨髄由来マクロファージに作用し TGF- β など線維源性サイトカインの発現上昇を誘導する事を示しているが、これらの因子を含めた責任因子の同定が今後期待される。本研究はこれまで詳細が不明であった OSM の肝線維化誘導能を明らかにし、その機序に骨髄由来マクロファージが関与する事を示しており、新たな肝線維化治療標的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。