

論文の内容の要旨

論文題目 血中タンパク質 Mac-2bp の新規生理的機能解析

氏名 小松 銀河

血中タンパク質 Mac-2 binding protein (Mac-2bp) は分子内に SRCR ドメインを持つ SRCR スーパーファミリー (SRCR-SF) に属するタンパク質である。Mac-2bp は特に肝障害時の活性化肝星細胞で発現、分泌されている。当研究室ではこれまでに、同じ SRCR-SF に分類される分泌型タンパク質 Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) が、急性腎障害などの病態進行に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。一方 Mac-2bp について生体内でどのような働きをしているのかは、今でもわかっていない。そこで Mac-2bp にも重要な働きがあると考え、本研究で明らかにしたいと考えた。

まず所属研究室で CRISPR/Cas9 法により作製された Mac-2bp 欠損マウスについて、実験前に状態を確認した。このマウスについて、ホモ欠損同士の雌雄個体を数年にわたり交配し続けているが、現在のところ出産時や発育に関して重大な現象は見受けられていない。そして同腹仔間における遺伝子型の比率は概ねメンデル則に従っており、また体重増加について差異はなかったことから、Mac-2bp 欠損マウスは正常に発生し生育できるものと考えられた。ここで興味深いことに、Mac-2bp 欠損マウスは野生型マウスと比較して、肝臓と腎臓が有意に重いことが分かった。肝腎の染色像に異常は見受けられず、肝臓について肝トリグリセライドおよびグリコーゲンを測定したが、野生型マウスと同等であった。現在のところ、組織が重い原因はわかっていない。

Mac-2bp は肝障害の進展により表面の糖鎖構造が変化する。この特徴を活かし、実際に WFA 陽性 Mac-2bp は肝線維化ステージの進展を判定するバイオマーカー M2BPGi として臨床の場で用いられている他、NAFL/NASH 鑑別マーカーなどのバイオマーカーの側面からも研究が進められている。ここで Mac-2bp は肝障害時の活性化した肝星細胞で産生されることから、Mac-2bp が肝線維化や NAFLD の増悪に関与しているのかについて、明らかにしたいと考えた。まず肝線維化への Mac-2bp の関与を、四塩化炭素による肝線維化マウスモデルにより検討した。その結果四塩化炭素の投与により肝線維化が誘導され、Mac-2bp の発現上昇が確認された一方、肝線維化マーカーおよび炎症マーカーの発現について、両群間で顕著な差異はなかった。また肝硬変の病態増悪についても両群で大きな違いは見受けられず、この系では Mac-2bp 欠損マウスは野生型マウスと同程度の肝線維化を引き起こすことが分かった。

次に NAFLD への Mac-2bp の関与を検討するために、高脂肪食による肥満マウスモデルを作製した。NAFLD は単純性脂肪肝 (NAFL) と炎症、線維化を伴う非アルコール性脂肪肝 (NASH) に分けられ、最終的に肝細胞がん (HCC) を形成する。高脂肪食を 12 週間給餌すると脂肪肝が誘導されるが、その際の肝トリグリセライドの蓄積、線維化マーカー、

炎症マーカーそして細胞内ストレスマーカーの発現それぞれについて、両群で大きな差異は見られなかった。また高脂肪食を 53 週間給餌させたところ、両群で同等の体重増加を示した。一方腫瘍形成および肝細胞変性について、Mac-2bp 欠損マウスでは野生型マウスほどの増悪は認められず、Mac-2bp は NAFLD の病態増悪には寄与しないことが示唆された。

肝星細胞は肝線維化への寄与の他に、肝臓の修復・再生に必要なサイトカインを分泌し、肝再生を促す役割を持つ。そこで肝再生への Mac-2bp の関与を検討するために、70%部分肝切除マウスモデルを作製し解析を行った結果、両群で同等の肝再生能が確認された。また手術後の細胞増殖マーカーKi67の発現比較によっても両群で差は見られず、Mac-2bp 欠損マウスでは野生型マウスと同等に肝再生することが分かった。肝星細胞の活性化についても線維化マーカーの発現量により評価したが、両群で差は見られなかった。以上のことから、Mac-2bp は部分肝切除時の肝再生、そして肝星細胞の活性化に関与する可能性は薄いことが示唆された。

ここで改めてマウスの各種組織を抗 Mac-2bp 抗体で染色し、Mac-2bp の発現分布を調べたところ、リンパ組織において、通常時から強いシグナルが見られることが分かった。なお肝臓では肝線維化時にはシグナルが観察される一方、通常時にはシグナルが見られなかったことから、Mac-2bp は活性化肝星細胞だけではなくこれらの組織でも産生され、何らかの生理機能を有している可能性が考えられた。例えばパイエル板では異なる領域で複数の細胞種が Mac-2bp を発現していることがわかった。パイエル板は B 細胞の成熟および IgA 分泌に関与することが知られているが、同腹仔の Mac-2bp 欠損マウスでは野生型マウス糞便中の IgA 量に違いはなく、Mac-2bp は IgA の分泌および B 細胞の成熟には関与しないことが示唆された。また、胸腺でも Mac-2bp 特異的シグナルが確認されたが、Mac-2bp 欠損マウスでは野生型マウスと同等の正常な胸腺細胞分化が行われており、Mac-2bp が T 細胞分化に関与する可能性は低いと考えられた。

以上のように、本研究では Mac-2bp 欠損マウスの解析を通して、Mac-2bp の肝星細胞の活性化や NAFLD の病態進行への寄与について解析を進めたが、Mac-2bp は病態を増悪させる方向には影響を及ぼさないことが示唆された。一方で Mac-2bp が NAFLD の病態を抑制している可能性も考えられることから、引き続き解析を進めていきたい。また本研究では Mac-2bp のリンパ組織における特徴的な発現分布を見出した。これまで Mac-2bp を分泌する細胞は肝障害時の活性化肝星細胞以外には知られておらず、新規性が高いと考えられる。この成果は、今後免疫系における新しいメカニズムを理解・解明する上で重要な貢献をするかもしれない。