

審査の結果の要旨

氏名 溝渕 悠代

原虫感染症であるマラリアにおける重篤な症状の一つとして肝障害が挙げられる。申請者は本病態の理解を目指して、マウスモデルを用いて、炎症性マクロファージならびにそれらマクロファージが産生する蛋白質である myeloid-related protein 14 (MRP14) の病態形成への関与を明らかにすることを目的とした。

第 1 章では、ヒトマラリア患者ならびにマラリア原虫感染マウスの両者において血中 MRP14 濃度の増加が見られることに着目して、細胞外に分泌された MRP14 が肝障害へもたらす影響を解析した。原虫感染 BALB/c マウスでは肝障害の指標である血清中 AST・ALT の上昇がみられるが、肝臓の病理所見ではマクロファージの浸潤を伴う巣状壊死が認められ、その部位には MRP14 陽性マクロファージの顕著な集簇が認められた。一方、T 細胞を欠損するヌードマウスでは、感染してもこのような肝障害が生じなかったが、MRP14 陽性マクロファージの肝臓への集簇は確認されるものの血中 MRP14 の上昇は認められなかった。以上のことは、マラリアにおける肝障害に、MRP14 陽性細胞の肝臓への集簇よりも MRP14 の分泌が関与していることを示唆するものである。そこで、原虫感染マウスに MRP14 を静脈内投与し、肝障害を悪化させることが出来るか検討した。血中原虫数や貧血の度合いに影響が見られなかった一方、MRP14 投与群ではコントロール群と比較して血清中 AST・ALT 濃度のさらなる上昇及び巣状壊死レベルの悪化が認められた。また、MRP14 投与による MRP14 陽性および MRP8 陽性マクロファージ集簇の増強も確認された。以上の結果は、マラリア肝障害における MRP14 の関与を示した初めての知見であり、マラリアの新たな治療法を開発する上でも重要な発見であるといえる。

第 2 章では、第 1 章の結果から MRP14 を欠損させることで炎症反応が減弱し肝障害が改善されると仮説をたて、MRP14 ノックアウト (KO) BALB/c マウスを作製し、原虫感染 KO マウスにおける肝障害を解析した。しかしながら仮説に反して、感染 KO マウスの血清中 AST・ALT 上昇及び巣状壊死レベルに wild-type (WT) マウスとの差は認められなかった。また、肝臓における炎症性

マクロファージ集簇数やサイトカイン等の炎症性因子及び走化性因子の発現においても、**KO**マウスと**WT**マウスの間に差は認められなかった。以上の結果は、マラリアにおいて**MRP14**が分泌型として病態に関与する一方、別の機序で病態の緩和に寄与していることを示唆しており、炎症性疾患における**MRP14**の機能を理解する上で重要な知見といえる。

第3章では、第1,2章の結果から炎症性疾患における**MRP14**の多面的な機能が示唆されたことから、代表的な誘導性炎症性疾患モデルである**LPS**誘導性ショックモデルを用いて、作製した**KO**マウスの免疫学的性状を解析した。結果、今回作製した**KO**マウスと**WT**マウスの間に**LPS**誘導性ショックによる生存率の差は認められず、**LPS**刺激時の**MRP14-KO**骨髄細胞からの**TNF- α** 産生量はむしろ**WT**より有意に高い値を示した。一方で、**LPS**刺激後の肝臓における炎症性細胞の集簇数は**KO**マウスで有意に少なく、数時間という急性炎症における**MRP8**陽性細胞の集簇に**MRP14**が関与することが示唆された。以上の結果から、**BALB/c**マウスでは**MRP14**欠損は骨髄細胞の応答性や走化性に影響を与え、そのパターンは報告のある**C57BL/6**背景での**MRP14**の機能と異なることが明らかになった。

以上より、申請者は、マラリアにおける**MRP14**のはたらきとして、分泌された**MRP14**が炎症性サイトカイン産生及び炎症性マクロファージ集簇を促進することで炎症反応カスケードを増幅し、肝障害を悪化させる重要な因子であることを初めて明らかにした。同時に、分泌型の機能以外にも、**MRP14**が骨髄細胞の発育や応答性にも影響を与える重要な因子であることも明らかにした。これらのことは、その発現の高さから長らく注目されてきたにもかかわらず、その機能が十分に明らかになっていなかった**MRP14**という分子に新たな視座を据えたという点でも有意義な研究であり、多面的な**MRP14**の機能を解明する嚆矢となると期待される。これらの研究成果は、**MRP14**の発現上昇が見られる多くの炎症性疾患、つまり感染症にとどまらずリウマチなどの自己免疫疾患やがんなどの疾患の病態解明にもつながることが期待でき、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。