

細胞死制御因子 cFLIP の肝細胞特異的欠損マウスを用いた肝障害モデルにおけるクッパー細胞および骨髄由来細胞の役割

朴 雪花

東邦大学医学部生化学講座

マクロファージ集団は死細胞の貪食に寄与し、生体の恒常性維持や炎症や発がんにおいて重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、その具体的な役割は不明である。本研究では肝障害において特定のマクロファージはどのような機能を担っているかを明らかにするために、肝細胞特異的 *Cflar* 欠損マウスを用いて死細胞貪食に関与する 2 種類の食細胞を個別に欠失させたモデルマウスを用いた。

cFLIP はアポトーシスやネクローシスの抑制に関与する NF- κ B による細胞死抑制の中心的な分子である。肝細胞特異的 *Cflar* 部分欠損マウス (*Cflar^{Hep-low}*) は、野生型のマウスでは肝障害を起こさない少量の TNF の投与により一過性肝障害が生じる。TNF 投与 6 時間後、血清中の ALT が上昇し、肝組織には死んだ肝細胞が残存している。24 時間後、ALT は正常に回復し、死細胞も残存していない (図 1)。この *Cflar^{Hep-low}* マウスの食細胞を除去後、TNF を投与し、肝障害を検討した。肝臓には 2 種類の貪食細胞が存在する。肝臓常在細胞であるクッパー細胞と TNF 投与によ

る肝臓炎症時に血中からやってくる骨髄由来のマクロファージ、単球が存在する。

まず、クロドロネートの投与によりクッパー細胞を除去後、TNF の投与による肝障害を誘導した。その結果、(図 2) に示したようにクッパー細胞の有無に関わらず肝細胞特異的 *Cflar* 部分欠損マウス (*Cflar^{Hep-low}*) の血清中の ALT は上昇し、24 時間後には回復していた。この結果はクッパー細胞は TNF の投与による肝障害では重要な役割を果たしていないことを示唆している。

次は、骨髄由来の血中からやってくる単球やマクロファージを除去した。肝細胞特異的 cFlip 欠損マウスに、致死量の放射線をかけ骨髄細胞を除去後、人ジフテリアトキシンレセプトを発現するマウスの骨髄細胞を移植した。この方法でジフテリアトキシン (DT) の投与により骨髄由来食細胞を除去できるキメラマウス (DTR) を樹立した。コントロールとして野生型マウス (WT) の骨髄細胞を移植した。上記マウスに TNF を投与し、肝障害を誘導した。

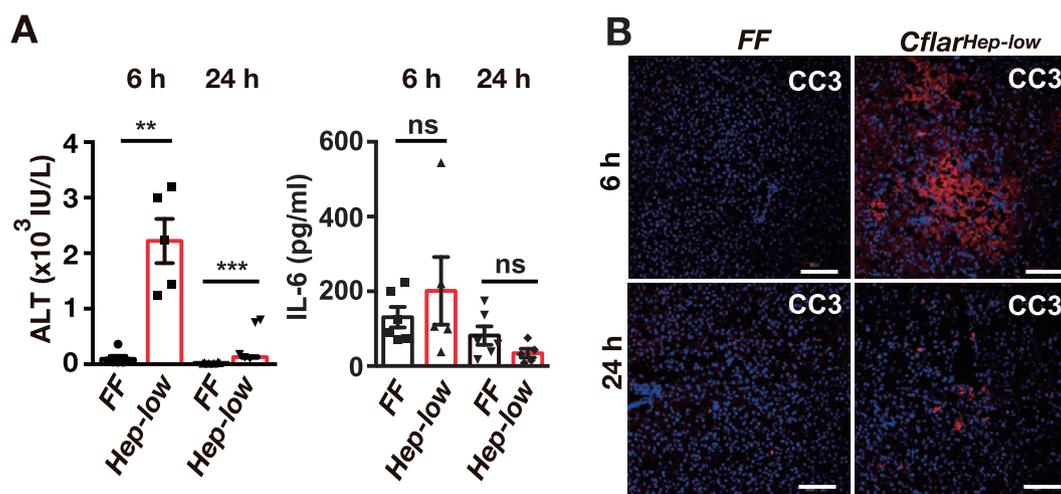


図1 (A) ALT, IL-6 (B) 肝臓の免疫染色, CC3 (cleaved caspase 3) 赤: 死細胞 scale: 100 μ m

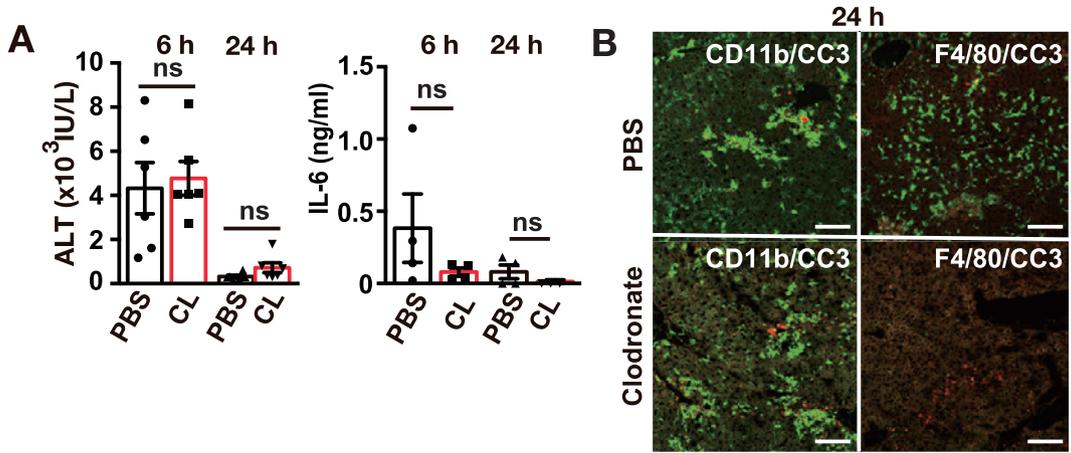


図2 (A) CL: クロドロネート (B) 緑: CD11b (骨髄由来の貪食細胞), F4/80 (クッパー細胞) scale: 100 μm

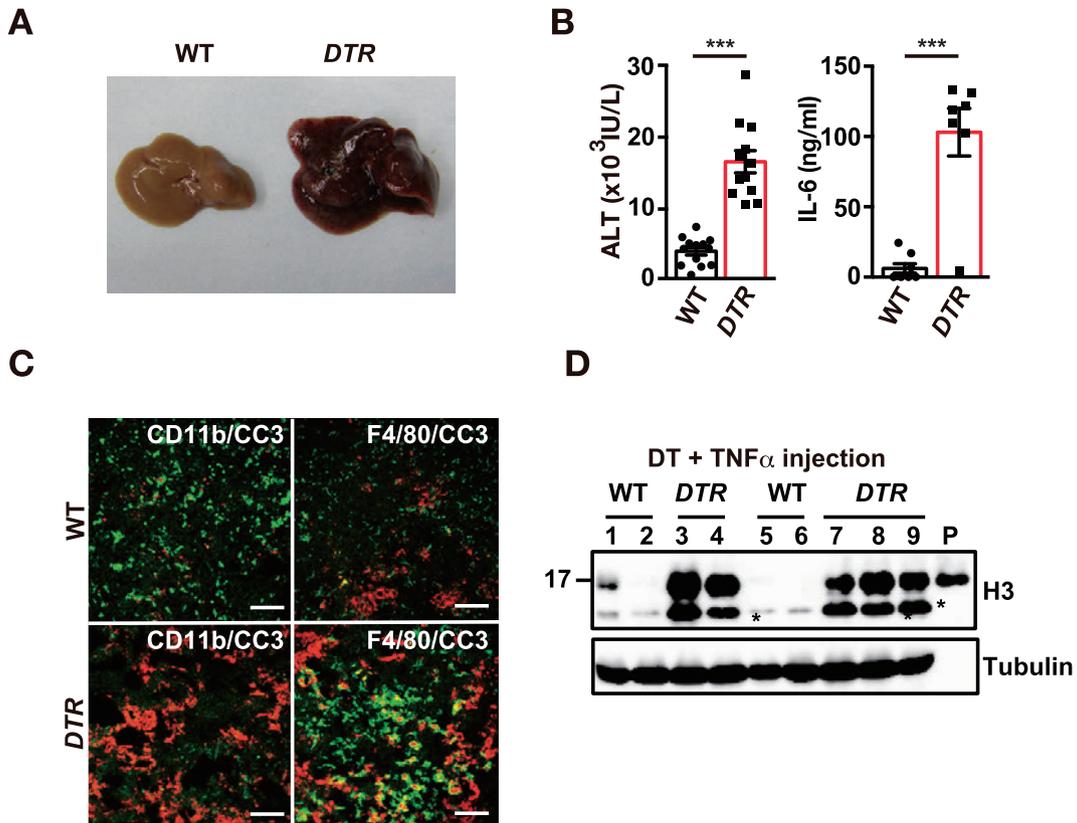


図3 (A) 肝臓の肉眼像 (B) ALT, IL-6 (C) 免疫染色 scale: 100 μm (D) 血清中のヒストン H3

結果, 血中からやってくる貪食細胞を除去した (DTR) マウスは TNF 投与 6 時間後, 肝臓は出血し, 血清中の ALT や炎症性サイトカインである IL-6 が著しく上昇した (図 3). 肝臓の組織検討では死んだ肝細胞は多く存在していた. 骨髄由来の貪食細胞を除去したマウスの血清中からはヒストン H3 タンパクが多く検出された (図 3). ヒストン H3

タンパクは血管内皮細胞に毒性を持っている報告がある. DTR キメラマウスの TNF 投与による肝臓の出血はヒストン H3 が関与する可能性も示唆されている. この結果から TNF により誘導される肝障害では血中からやってくる骨髄由来の貪食細胞が死細胞の除去, 炎症の抑制に重要な役割を果たしていることが明らかになり, 死細胞から放出さ

れる大量のヒストンタンパク H3 が肝炎症の増悪の原因中の一つであると考えられる。

肝障害に併発して、遺伝的な理由、あるいは病態の特徴として骨髄細胞数が減少した場合の影響について今回示唆

的な知見をえられた。一方で、死細胞から放出されるヒストンなど DAMPs (Damage-Associate Molecular Pattern) の作用に対して具体的にどのように影響するかを明らかにすることが今後の課題であると考えている。

朴 雪花先生 略歴



2007年6月 長春中医薬大學 臨床医学 卒業
 2007年7月 中国吉林省龍井市人民病院 研修
 2010年4月 順天堂大学大学院医科研究科 博士課程 免疫学 入学
 2014年3月 医学博士
 2014年4月 順天堂大学アトピー疾患研究センターポストドクトラルフェロー
 2014年11月 東邦大学医学部医科研究科生化学 博士研究員
 2016年10月 The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Cell Signaling and Cell Death Division, Postdoctoral Fellow (Australia 留学中)

DOI: 10.14994/tohoigaku.2018-006