The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Propionibacterium acnes-induced hepatic granuloma formation is impaired in mice lacking tetraspanin CD9
Author(s)	山根, 宏之
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46178
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【13】

氏　　名	山根宏之（やまねひろゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　19714　号
学位授与年月日	平成17年5月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	*Propionibacterium anes*-induced hepatic granuloma formation is impaired in mice lacking tetraspanin CD9 （テトラスパニンCD9欠損マウスでは肝臓肉芽腫の形成が障害される）
論文審査委員	（主査） 教　授　川瀬　一郎 （副査） 教　授　青笹　克之　　教　授　宮坂　昌之

論文内容の要旨

【目的】

肉芽腫は肺結核やサルコイドーシスなどの疾患で見られ、マクロファージなど単核系の細胞や他の炎症細胞が炎症局所に集簇し形成される。その役割として病原体を封じ込め、その播種を防御するなどがいわれている。肉芽腫の形成メカニズムの詳細は分かっていないが、これまでにノックアウトマウスを用いた実験で、MCP-1 などのケモカイン、TNF-α、IFN-γなどの炎症性サイトカイン、CD44、オステオポンチンなどの接着分子が肉芽腫形成に必要であることが明らかにされつつある。テトラスパニンは CD9、CD37、CD63、CD81、CD82 や CD151 等を含む 32 種類のメンバーからなり、細胞膜を4回貫通する構造を持つタンパクファミリーである。細胞膜上のマイクロドメインでインテグリンなどの機能分子と複合体を形成することにより細胞の活性化、増殖、分化、遊走、アポトーシス、融合に関わっている。今回我々は肝臓での肉芽腫形成におけるテトラスパニン CD9 の関与を検討した。

【方法ならびに成績】

マウスの尾静脈から *P. acnes* を注入すると、3日後には肝臓に肉芽腫が形成され始め、7～14日日にはその数・大きさはプラトーになり、その後減少していく。このモデル用いて、まず肉芽腫が形成される際の肝臓での CD9 の発現を、homogenate を用いウエスタンブロットで検討したところ、CD9 の発現は肉芽腫形成と一致して増強することが分かった。次に肝臓の免疫染色で CD9 の発現をくわしく観察したところ、肉芽腫が形成されるのに一致して肝細胞での CD9 の発現の増強がみられた。一方、肉芽腫を構成している炎症細胞は CD9 をほとんど発現していなかった。このことから肉芽腫形成と肝細胞での CD9 の発現の増強に関連があると考えられた。また TNF-α で肝細胞癌株 HepG2 とマクロファージ株 RAW264.7 を *in vitro* で刺激したところ、RAW264.7 では CD9 の発現に変化がみられなかったのに対し HepG2 では容量依存性・時間依存性に CD9 発現増強を認め、TNF-α による炎症刺激で肝細胞での CD9 の発現が増強されることが分かった。次に CD9-ノックアウト（KO）マウスに *P. acnes* を静注した。その結果、ワイルドタイプ（WT）マウスに比べ、CD9-KO マウスでは肉芽腫の数・大きさとも減少した。また、CD9-KO マウスでは *P. acnes* が肝臓内に播種する傾向が認められた。両者の肝臓 homogenate を用いて肉芽腫形成に必須のサ

イトカインTNF-α、IFN-γの発現をRT-PCRで検討したところ、CD9-KOマウスではTNF-α、IFN-γの発現遅延を認めた。またBoyden chamberを用いて、肝臓homogenateのマクロファージに対する運動能を測定したところ、CD9-KOマウスでは*P. acnes*刺激後の運動能の増加を認めなかった。以上のことから、CD9は肝臓での肉芽腫形成に必要と考えられ、特に肝細胞CD9が関わっている可能性が示唆された。

【総括】

肉芽腫は炎症細胞の活性化や遊走・集簇によって形成される。テトラスパニンは細胞膜上のマイクロドメインでインテグリンなどの機能分子と複合体を形成することにより細胞の活性化や遊走を起こすといわれている。本研究では、肝臓肉芽腫形成におけるテトラスパニンCD9の関与を検討した。肝臓肉芽腫が形成される際に肝細胞でのCD9発現が亢進すること、TNF-α刺激により肝細胞株でのCD9の発現が亢進することより、肝細胞CD9の重要性が考えられた。またCD9-KOマウスでは肉芽腫の数・大きさが減少し、*P. acnes*が肝臓内に播種することから、CD9が肉芽腫形成に必要であることが分かった。そのメカニズムとして、TNF-αおよびIFN-γの発現とマクロファージの運動能にCD9が密接に関与している可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

肉芽腫は炎症細胞の活性化や遊走・集簇によって形成される。テトラスパニンは細胞膜上のマイクロドメインでインテグリンなどの機能分子と複合体を形成することにより細胞の活性化や遊走を起こすといわれている。本研究では、肝臓肉芽腫形成におけるテトラスパニンCD9の関与を検討した。肝臓肉芽腫が形成される際に肝細胞でのCD9発現が亢進すること、TNF-α刺激により肝細胞株でのCD9の発現が亢進することなどから肉芽腫形成過程での肝細胞CD9の重要性が考えられた。またCD9-KOマウスでは肉芽腫の数・大きさが減少し、*P. acnes*が肝臓内に播種するという事実も、この可能性を支持している。そのメカニズムとして、TNF-αおよびIFN-γの発現とマクロファージの運動能にCD9が密接に関与している可能性が考えられた。

本研究は、生体防御において重要な役割を果たしている肉芽腫形成のメカニズムの一端を解明する手がかりとなり、よって博士（医学）の学位授与に値するものと認める。