

肝線維化における高硫酸化 DS の役割、 実験的 OA における肥満細胞の疼痛誘起効果

愛知医科大学学際的痛みセンター 羽瀧脩躬

培養軟骨細胞が培養液に硫酸転移酵素を分泌するという発見を出発点とし、コンドロイチン 6 硫酸転移酵素 (C6ST)、コンドロイチン 4 硫酸転移酵素 (C4ST) の均一精製と遺伝子クローニングを行った。これらの酵素遺伝子はその後多くの関連遺伝子のクローニングに寄与した。その後コンドロイチン硫酸 E (CSE) の合成に関与する硫酸転移酵素 (GalNAc4S-6ST) をイカ軟骨から均一に精製した。イカの遺伝子からヒト、マウスの遺伝子を得、遺伝子 KO マウスを作製した。この KO マウスの各器官に含まれる GAG を分析し、調べた全ての器官で CSE が消失することを確認した。骨髄細胞から分化した肥満細胞 (BMMC) には CSE が含まれるが、KO マウスから作製した BMMC には CSE が含まれないこと、肥満細胞特異的プロテアーゼであるトリプターゼが WT の BMMC よりも減少することが示された。これらの KO マウスの解析結果が本日報告する研究の元になっている。

マウスの肝臓にはデルマタン硫酸骨格で GalNAc4,6-硫酸をもつ GAG (DSE) が存在し、KO マウスでは消失した。DSE が結合しているプロテオグリカン MALDI-TOF MS で解析し、デコリンとビグリカンが検出された。デコリンは肝硬変で増加することが知られており、デコリンに結合する DSE が肝線維化に何らかの役割を果たすと推定された。肝線維化における DSE の機能を調べるため、WT マウスと KO マウスに CCl₄ を 5 週間注射し肝線維化を起こした。CCl₄ 投与終了 2 日後ではシリウスレッド染色により WT よりも KO の方で線維化が進行していた。血清 ALT は WT よりも KO の方が高かった。MMP-2、MMP-13、パーシカン mRNA の発現は WT よりも KO の方が高かった。回復期ではヒドロキシプロリン含量、シリウスレッド染色により WT よりも KO の方が線維化が多く残っており、MMP-9 の発現は WT よりも KO の方が低かった。これらの観察から DSE の欠損は肝線維化の進行を早め回復を遅延させると考えられる。

疼痛の発症機序には神経系と免疫系特に肥満細胞との相互作用が重要な役割を果たしていると考えられている。変形性関節炎(OA)に伴う痛みの発症と制御に肥満細胞がどのように関与しているかを明らかにするため、モノヨード酢酸(MIA)投与による実験的 OA の系で BMMC の影響を調べた。8 週齢のマウスの右膝に MIA を注射し、2 週間後に BMMC を注射した。膝の痛みを定量化するため、自由行動中のマウスが左下肢で立ち上がる割合を求め痛み指数とした。MIA 注射後 2 週間後には痛みは低下するが、BMMC を注射すると再び痛みが増加した。MIA を注射しないで BMMC だけを注射したときは痛みは上昇しなかった。このことから痛みの誘起には炎症による肥満細胞の活

性化が必要と考えられる。肥満細胞特異的プロテアーゼであるトリプターゼは PAR2 という膜受容体に働きシグナルを伝えることが知られている。PAR2 のアンタゴニスト FSLLRY-NH₂ 存在下で BMMC を注射したときは痛みが誘起されなかった。このことは、脱顆粒したマスト細胞から放出されたトリプターゼがターゲット細胞の表面に存在する PAR2 を活性化することにより、痛みが誘起される可能性を示す。

略 歴

昭和 42 (1967) 年 3 月	名古屋大学理学部化学科卒業
昭和 47 (1972) 年 3 月	名古屋大学大学院理学研究科終了
昭和 47 (1972) 年 4 月	愛知教育大学助手
昭和 48 (1973) 年 4 月	愛知教育大学助教授
昭和 58 (1983) 年 5 月	
～昭和 59 (1984) 年 4 月	イリノイ大学 Conrad 研究室客員研究員
昭和 63 (1988) 年 4 月	愛知教育大学教授
平成 20 (2008) 年 4 月	愛知教育大学特別教授
平成 22 (2010) 年 4 月	
～現在	愛知医科大学客員教授