

## 学位論文の内容の要約

氏名	向 亮
学位の種類	博士 (生命科学)
学府又は研究科・専攻	大学院生物システム応用科学府 共同先進健康科学専攻
指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	ウマ Histidine-rich glycoprotein の遺伝子解析と好中球の制御機能に関する研究

## 【論文の内容の要約】

ウマは過去から現在にかけて、様々な形で人間社会に貢献しており、福祉向上と健康維持はヒトにとっての責務である。致死率の高いウマの炎症性疾患として全身性炎症反応症候群 (systemic inflammatory response syndrome: SIRS) や敗血症が挙げられ、SIRS や敗血症と診断されたウマの致死率は極めて高い。この現状にも関わらず、ヒト・ウマ共に具体的な根治療法は確立されていない。近年、ヒトの炎症性疾患に対する有望なバイオマーカーとして histidine-rich glycoprotein (HRG) が注目されている。SIRS および敗血症患者では血漿中 HRG 濃度が健常者と比較して著しく低下し、濃度の低下は患者の致死率と関連すること、さらに、敗血症モデルマウスに HRG を投与することで生存率が回復することから、HRG が有望なバイオマーカーとなる知見が集積されている。以上の背景から HRG に着目し、ウマ SIRS や敗血症などの重症炎症性疾患に対する新規診断法の確立を目指した。

GenBank データベース上にウマ HRG の遺伝子情報が予想配列しか存在しなかったため、まず、ウマ HRGcDNA の配列解析を行なった。HRG はヒトやマウスでは肝臓の実質細胞で発現することが報告されているため、ウマでも同様に肝臓で発現しているかを確認したところ、前述の情報と同様に肝臓でのみ mRNA 発現が確認された。また、肝臓由来の cDNA には予想配列に追加で 135 bp の新規配列が同定された。以上の結果から、ウマ HRG は 1,530 bp、509 aa によって構成されることが明らかとなった。次に、ウマ HRG の精製・検出を行なった。ニッケルセファロースカラムを使用してウマ HRG の精製を行なったところ、精製サンプルは Coomassie brilliant blue (CBB) 染色およびウエスタンブロット法で 70 kDa 付近にシングルバンドが確認され、ウマ HRG の精製・検出を行うことに成功した。

ウマ HRG 遺伝子解析の一部サンプルにおいて欠失が確認されたため、ゲノム DNA を使用して HRR ドメインに対する PCR 解析を行なったところ、複数のサイズのバンドが確認された。また、PCR のバンドパターンから、ウマ HRG の遺伝子型は複数存在することが明らかとなった。次に、多検体を使用して各遺伝子型の分布を調べたところ、いずれの遺伝子型も 1%以上存在することから、ウマ HRG には複数の遺伝子多型が存在すると規定された。

次に、炎症病態形成に対する HRG の作用を調べるために、好中球の接着、遊走、reactive oxygen species (ROS) 産生、貪食能に対してウマ HRG がどのように影響するのかを調べた。ウマ血液から回収した好中球を使用して、ウマ HRG 存在下でそれぞれの活性に対する作用を調べたところ、接着・遊走・ROS 産生はウマ HRG によって抑制され、一方で、貪食は促進されることがわかった。HRG はトロンビンによって分解されることが報告されており、炎症環境下では血中と比較して HRG 濃度が低下していると考えられる。そのため、血中では HRG は好中球の貪食を促進する反面、接着・遊走・ROS 産生は抑制がかかっており、炎症組織では HRG 濃度が低下することによって好中球動員が誘導されると考えられる。以上のことから、HRG は好中球の活性を双方向的に調節することによって、過剰な活性化を防ぎ、恒常性の維持に関与することが示唆された。

上記研究成果は、好中球性炎症における病態形成の理解の一助となるものであり、ウマの炎症性疾患に対して HRG を標的とした診断および治療の有効性を提唱するものである。