



NewsLetter

自治医科大学 地域医療オープン・ラボ

2021
OCT
特別号

マウスにおける血液凝固第 VIII 因子産生細胞の同定

自治医科大学学生化学講座病態生化学部門、附属病院病理診断部、山梨大学の研究グループは、遺伝子改変マウスを用いて生体内で血液凝固第 VIII 因子を産生する細胞の特性を明らかにしました。その研究成果が Scientific Reports 誌に掲載されました。

論文タイトル：Characterization and visualization of murine coagulation factor VIII-producing cells in vivo.

論文著者：Morisada Hayakawa, Asuka Sakata, Hiroko Hayakawa, Hikari Matsumoto, Takafumi Hiramoto, Yuji Kashiwakura, Nemekhbayar Baatarsogt, Noriyoshi Fukushima, Yoichi Sakata, Katsue Suzuki-Inoue, and Tsukasa Ohmori.

掲載雑誌：Scientific Reports, 11, 14824, 2021 (DOI: 10.1038/s41598-021-94307-0).

Q1. 血液凝固第 VIII 因子とは？

私たちのからだは、外傷などによる出血に素早く対応するために止血機構を備えています。止血機構には、血小板が主役となる一次止血と、複数の血液凝固因子が関わる二次止血があり、これらが連動して傷ついた血管部位に血栓をつくり出血を止めます。血液凝固第 VIII 因子（以下、第 VIII 因子）は、二次止血ではたらく分子量約 33 万の糖タンパク質で、血中半減期は約 12 時間です。平常時はキャリアタンパク質の von Willbrand factor (VWF) と結合し不活性型として全身を巡っていますが、出血するとトロンビンなどによって限定分解され、VWF から離れて活性型となります。活性化された第 VIII 因子は活性型第 IX 因子と結合し、第 X 因子を活性化して凝固反応を促進します。その後、プロテイン C によって切断され活性を失います。

第 VIII 因子の遺伝的異常は血友病 A とよばれ、先天性出血性疾患のなかで最も多い疾患です。第 VIII 因子の不足や欠乏は血液凝固障害を引き起こします。血友病 A の患者さんは皮下出血や関節内出血を起こしやすく、また手術や抜歯などのときに血がなかなか止まらないことがあります。

Q2. 研究のきっかけは？

血液凝固因子の多くは、肝臓の実質細胞である肝細胞で作られます。肝硬変や劇症肝炎など肝細胞がダメージを受ける肝疾患では、第 IX 因子や第 X 因子などの産生は低下し、出血傾向が高まります。一方、肝移植が必要になるほどの重度な障害でも血しょう中の第 VIII 因子凝固活性だけは上昇することから、肝細胞以外が産生細胞と考えられてきました。しかし、その臓器や細胞については、肝内皮細胞やリンパ管内皮細胞、骨髄間葉系幹細胞など様々な報告があり、議論が割れていました。理由の 1 つとして、第 VIII 因子は微量かつ不安定なタンパク質であり、生体内での検出が難しいことが挙げられます。そのため、第 VIII 因子の産生臓器・細胞を特定するためには技術的な工夫が必要でした。

Q3. 今回どのような研究成果が得られたのですか？

本研究では第 VIII 因子の産生臓器・細胞を明らかにするために、内在性の第 VIII 因子遺伝子を欠損すると、蛍光強化型の緑色蛍光タンパク質 (EGFP) を発現するノックインマウスを樹立しました。このノックインマウスを用いると、第 VIII 因子産生細胞を EGFP 発現細胞として検出できます。成体マウスの臓器を調べたところ、EGFP の発現は肝臓の内皮細胞で特異的に検出されました。肝臓における EGFP の発現は、 $CD31^{high}CD146^{high}Lyve1^{+}$ の特徴を持つ類洞内皮細胞のみで検出され、中心静脈内皮細胞には認めませんでした (図 1)。類洞内皮細胞とリンパ管内皮細胞は類似した性質を有しますが、EGFP 発現細胞は血小板に発現する CLEC-2 が陽性で、リンパ管内皮細胞に発現するポドプラニンが陰性であることが判明しました。また、胚発生過程における EGFP の発現は、胎生後期から高くなり、新生仔では成体の約 80% に達していました。さらに、胎児の肝臓における網羅的な遺伝子発現解析により、発生に伴って類洞内皮細胞で増加する遺伝子を見出しました。以上から、これまで議論があった第 VIII 因子産生細胞は、 $CD31^{high}CD146^{high}Lyve1^{+}CLEC-2^{+}$ 肝類洞内皮細胞であることをマウスにおいて明らかにしました (図 2)。

Q4. 今後はどのような展開が期待されますか？

血友病 A の治療は、第 VIII 因子製剤を定期的に注射して不足分を補充する必要があります。しかし、定期補充療法は生涯続くため、患者さんにとって身体的、経済的負担となっています。現在、血友病 A に対する遺伝子治療の開発は進んでいますが、肝細胞を産生細胞としているために安定した結果が得られていません。今回の成果は、血友病 A に対する遺伝子治療やゲノム編集において、第 VIII 因子産生細胞を標的とする新たな治療法の開発につながると期待しています。

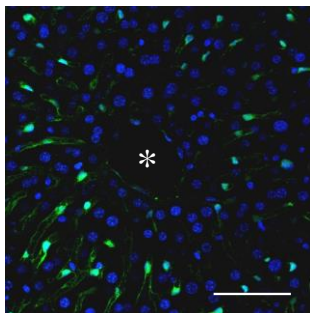


図 1. ノックインマウスの肝臓における EGFP の発現

EGFP は、中心静脈から放射状に広がる類洞の内壁を構成する肝類洞内皮細胞に発現する。

緑色: EGFP (肝類洞内皮細胞)

青色: DAPI (細胞核)

* : 中心静脈

Scale bar: 75 μ m

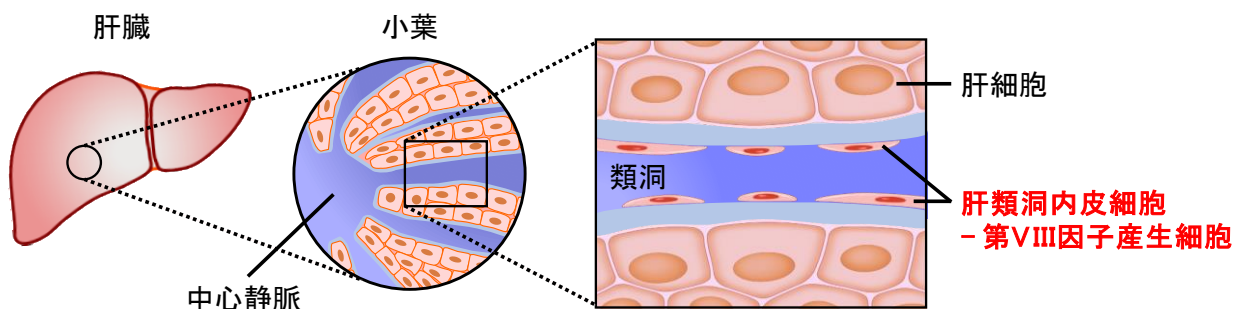


図 2. 第 VIII 因子を産生する肝類洞内皮細胞の模式図

第 VIII 因子は、 $CD31^{high}CD146^{high}Lyve1^{+}CLEC-2^{+}$ 肝類洞内皮細胞で産生される。

【発行】

自治医科大学大学院医学研究科広報委員会
自治医科大学地域医療オープン・ラボ