

審査の結果の要旨

氏名：松井 淳

本研究は肝線維化過程において、コラーゲンを主体とする細胞外マトリックスを過剰に産生すると考えられている肝星細胞の活性化機構を知る目的で、本細胞に特異的に発現する蛋白のクローニングを行い、これら蛋白の肝星細胞活性化における役割を明らかにしようとするものであり、下記の結果を得ている。

1. ラット肝星細胞株より作製したcDNAライブラリーより選別した3種類のクローンのうち、1クローンから1,404 bpの読み取り枠を含む1,530 bpの塩基配列を決定した。得られたcDNAは、I型プロコラーゲンC端プロテイナーゼエンハンサー (Type I procollagen C-proteinase enhancer protein; PCPE) としてクローニングされたヒトおよびマウスcDNAと高いホモロジーを示し、ラットのPCPEであることが判明した。本蛋白のN側には蛋白間の相互作用に関与するとされるCUBドメインが、C側にはRNA結合ドメインに特異的なconsensus motifであるRNP-1およびRNP-2が存在することが示された。
2. 各種肝構成細胞および線維芽細胞において、PCPE蛋白に対応するmRNAの発現は、単離直後の肝実質細胞、類洞内皮細胞、Kupffer細胞には認められず、星細胞および線維芽細胞に認められることがノーザンブロット法により示された。また、培養にて活性化した星細胞では発現が増強し、線維芽細胞と同等となることが示された。肝星細胞におけるPCPE蛋白発現をウエスタンブロット法で検討したところ、単離直後には検出されず、培養にて活性化すると経時的に発現が増強することが示された。*In vivo* における検討では、PCPE mRNAは正常肝では認められないが、四塩化炭素反復投与にて作製し

た線維肝において検出されることが示された。

3. 株化肝星細胞における PCPE 蛋白発現を，アンチセンスオリゴヌクレオチド添加にて抑制したところ，同細胞のコラーゲンおよび非コラーゲン蛋白合成は，有意に低下することが示された。また，アクチノマイシン D 存在下では，総 RNA 量の半減期が，アンチセンスオリゴヌクレオチドを添加すると有意に短縮することが示された。したがって，PCPE 蛋白は RNA 安定化作用を有すると考えられた。

以上，本論文はラット肝星細胞株からクローニングした I 型プロコラーゲン C 端プロテイナーゼエンハンサーが，肝では星細胞に発現しており，その活性化とともに発現が増強することを明らかにした。また，本蛋白は RNA 安定化作用を有する RNA 結合蛋白と推定され，RNA 制御を介して星細胞の蛋白合成を調節し，同細胞の活性化に関与する可能性が明らかとなった。本研究はこれまで不明な点が多かった，肝星細胞の活性化を制御する機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ，学位の授与に値するものと考えられる。