



補体レクチン経路と第二経路の活性化におけるMAS P-1およびMASP-3の役割

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2020-11-10 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 林, 学 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000316

論文内容要旨 (和文)

学位論文題名	補体レクチン経路と第二経路の活性化における MASP-1 および MASP-3 の役割
<p>補体は重要な自然免疫機構の1つであり、古典経路・レクチン経路・第二経路と呼ばれる 3 つの補体活性化経路を通じて活性化する。補体因子 Mannose-binding lectin (MBL)-associated serine protease (MASP)-1 と MASP-3 は <i>Masp1</i> 遺伝子のスプライシングバリエントであり、両者の同時欠損マウスを用いてこれらがレクチン経路の活性化、ならびに補体 D 因子 (FD) の活性化を介した第二経路の活性化に必須であることが示されているが、個々の役割は不明である。本研究ではその解明を目的とし、MASP-1 および MASP-3 を単独で欠損するマウスの作製・解析を行った。</p> <p>MASP-1 単独欠損 (<i>Masp1</i>^{-/-}) および MASP-3 単独欠損 (<i>Masp3</i>^{-/-}) マウスを CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集で作製し、Real-time RT-PCR ならびに ELISA にて標的遺伝子の特異的欠損を確認した。両マウスの血清中におけるレクチン経路・第二経路の活性化能を種々の評価法を用いて検討した結果、<i>Masp1</i>^{-/-}マウスでは第二経路の活性化能を認めたがレクチン経路の活性化能を消失し、<i>Masp3</i>^{-/-}マウスではレクチン経路の活性化能を認めたが第二経路の活性化能を消失していた。<i>Masp1</i>^{-/-}マウスの血清中の FD は野生型と同様に主に活性化型として検出されたが、<i>Masp3</i>^{-/-}マウスの血清 FD はほとんどが未活性化型として検出された。これらの結果から、生体内において MASP-1 はレクチン経路の活性化に、MASP-3 は FD の活性化を介した第二経路の活性化に、それぞれ独立して作用することが明らかとなった。</p> <p>次に、生体内での MASP-1・MASP-3 の活性化における両分子間の相互作用を Western blotting にて評価した。その結果、<i>Masp3</i>^{-/-}マウスの血清中の MASP-1 はほとんどが未活性化型として検出され、mannan-agarose を用いた血清中 MASP-1 の <i>in vitro</i> での活性化レベルは野生型と同等であった。一方、<i>Masp1</i>^{-/-}マウス血清・血漿中の MASP-3 は、野生型と同様にほとんどが活性化型として検出された。これらの結果から、MASP-1 の活性化に MASP-3 は必須ではないことに加え、MASP-3 は主に活性化型として血液中に循環しており、その活性化機構には MASP-1 が必須ではないことが明らかとなった。</p> <p>以上、本研究により、生体内においてレクチン経路の補体因子としての MASP-1, FD の活性化に作用する第二経路の補体因子としての MASP-3 という、補体系におけるそれぞれの独立した役割が明らかとなった。本研究の成果は、これまで不明瞭であった補体系における MASP-1・MASP-3 それぞれの役割を実証し、補体系のメカニズムの全容解明に貢献するものである。</p>	

(J Immunol. 2019 Sep 15;203(6):1411-1416.)

学位論文審査結果報告書

令和2年2月10日

大学院医学研究科長様

下記のとおり学位論文の審査を修了したので報告いたします。

【審査結果要旨】

氏名 林学

学位論文題名

補体レクチン経路と第二経路の活性化における MASP-1 および MASP-3 の役割

Role of MASP-3 in the Physiological Activation of Factor D of the Alternative Complement Pathway

補体は重要な自然免疫機構の一つであり、古典経路・レクチン経路・第二経路と呼ばれる三つの補体活性化経路を通じて活性化する。本研究では、補体因子 Mannose-binding lectin (MBL)-associated serine protease (MASP)-1 と MASP-3 がレクチン経路の活性化ならびに補体 D 因子 (FD) の活性化を介した第二経路の活性化に必要であるが、遺伝子欠陥マウスを用いて解析している。MASP-1 単独欠陥マウス ($Masp1^{-/-}$)、MASP-3 ($Masp3^{-/-}$) 単独欠陥マウスを CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集で作成し、両マウスを用いレクチン経路・第二経路の活性化を評価している。 $Masp1^{-/-}$ マウスでは第二経路の活性化能は認められたが、レクチン経路の活性化が見られず $Masp3^{-/-}$ マウスではレクチン経路の活性化能は認められたが、第二経路の活性化能は認めなかった。さらに、 $Masp1^{-/-}$ マウスの血清中には FD の活性化型を認められたのに対して、 $Masp3^{-/-}$ マウスの血清中には FD の活性化型を認めなかった。以上の結果より、MASP-1 はレクチン経路活性化に MASP-3 は FD の活性化を介した第二経路の活性化に独立して作用することが明らかになった。本研究はこれまで解明されていなかった補体活性化経路における MASP-1、MASP-3 の役割を遺伝子欠陥マウスの技術を用い、明解に示した画期的な研究成果である。今後の補体研究の礎となる内容であり、本知見は補体の活性化が関与する様々な疾患や病態の解明や治療法の開発につながる事が期待される。以上より、**学位授与に値すると判断する**。なお申請者は審査発表会での質問に対して的確に説明しており、この点も高く評価する。

学位論文審査委員

主査 リウマチ膠原病内科学講座 教授 右田 清志

副査 細胞科学研究部門 准教授 井上直和

副査 皮膚科学講座 准教授 大塚幹夫