

氏名	TRAN THI NHU MAI		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 7951 号		
学位授与年月	平成 28年 9月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	MafB is the primary regulator of complement component C1q (MafB は補体 C1q のマスターレギュレーターである)		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	土屋 尚之
副査	筑波大学教授	博士 (人間・環境学)	森川 一也
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	渋谷 和子
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	近藤 裕也

### 論文の内容の要旨

TRAN THI NHU MAI 氏の博士学位論文は、C1q 発現誘導における転写因子 MafB の役割を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

#### (目的)

MafB は大 Maf ファミリーに属する転写因子であり、Maf 認識配列 (MARE) に結合する。MafB は、血球系では単球とマクロファージに特異的に発現する。C1q は補体第一成分の構成要素であり、アポトーシス細胞に結合し、マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食 (エフェロサイトーシス) において機能する。ヒトおよびマウスにおいて C1q 欠損は全身性エリテマトーデス (SLE) 様症状をもたらすことが知られているが、C1q 発現調節の分子機構は未解明である。一方、LXR/RXR がマクロファージにおける MafB 発現を調節すること、アポトーシス細胞クリアランスを促進すること、RXR $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、PPAR $\delta$  欠損が自己免疫性腎障害を誘導することは知られているが、エフェロサイトーシス、自己免疫疾患の発症における MafB の役割についての報告はない。著者は本研究において、エフェロサイトーシスにおける MafB の役割と自己免疫疾患との関連について検討した。

#### (方法)

著者は、血球系細胞において *Mafb* を欠損したマウスを作成し、血清中の自己抗体、尿蛋白、腎組織像、糸球体における免疫複合体沈着を解析した。次に著者は、*Mafb* 欠損マクロファージのアポトーシス

## 審査様式 2-1

細胞貪食を、pHrodo 標識アポトーシス細胞を用いたフローサイトメトリーにより検討した。さらに、野生型および *Mafb* 欠損マクロファージを用いて、MafB による C1q 発現調節を qPCR、Western blot で検討した。次に著者は、*Mafb* 欠損血球系細胞を移入したマウスの血清を用いて補体溶血活性の検討を行うとともに、C1q の役割を検討するために、*Mafb* 欠損マクロファージのエフェロサイトーシス障害が C1q を含む血清の添加により回復するか否かを検討した。さらに、PPAR  $\delta$ 、MafB と C1q の関連を明らかにするために、PPAR  $\delta$  アゴニストにより *Mafb* 発現が誘導されるか否かを検討した。また、野生型および *Mafb* 欠損マクロファージに PPAR  $\delta$  を誘導して C1q 発現が誘導されるか否かを検討した。

### (結果)

著者は、血球系細胞において *Mafb* を欠損したマウスでは、血清自己抗体レベルの上昇、尿蛋白、免疫複合体沈着を伴う糸球体腎炎が出現することを観察した。また、*Mafb* 欠損マクロファージにおいては、アポトーシス細胞との共培養により、*in vitro* においても *in vivo* においても、野生型と比較して、エフェロサイトーシスが低下することを見出した。

次に著者は、*Mafb* 欠損マクロファージにおいて、*Clqa*, *Clqb*, *Clqc* の mRNA 発現、および、タンパク質レベルでの C1q の発現低下を見出した。*Mafb* 欠損による C1q の低下は、未熟樹状細胞においても観察された。さらに、*Mafb* 欠損血球系細胞を移入したマウスの血清では、補体溶血活性が約 50%低下していた。

さらに著者は、ヒトのマクロファージ (THP-1) においても、siRNA による *MAFB* のノックダウンにより、*ClQA*, *ClQB*, *ClQC* 発現が低下することを確認した。

*Clqa*, *Clqb*, *Clqc* の promoter 領域には、いずれも half-MARE 配列が存在し、種を超えて保存されていた。著者は、promoter assay およびクロマチン免疫沈降法により、ヒト、マウスのいずれにおいても、MafB が half-MARE 配列に結合して、直接 C1q 発現を制御することを示した。

著者はさらに、野生型マウスの血清により、用量依存的に *Mafb* 欠損マクロファージによるアポトーシス細胞貪食障害が回復するが、補体を不活化した血清や、*Clqa* 欠損マウスの血清では回復が見られないことを示した。

最後に著者は、PPAR  $\delta$  アゴニストは *Mafb* 欠損マクロファージおよび野生型マクロファージのいずれにおいても C1q 発現を誘導するが、*Mafb* 欠損マクロファージでは野生型に比べて発現誘導が減弱することを示した。

### (考察)

本論文において著者は、MafB がマクロファージによるアポトーシス細胞の貪食に必要であり、その機序が、C1q の構成要素である *Clqa*, *Clqb*, *Clqc* 発現誘導を介するものであることを初めて示し、MafB が補体古典的経路の key regulator であると結論づけている。ゼブラフィッシュやヤツメウナギにおいても、C1q あるいは C1q 様遺伝子のプロモーター領域には half MARE 配列が認められることから、著者は、MafB 結合部位が、原始的な補体のレクチン経路から、獲得免疫系の補助因子としても機能する補体の古典的経路への進化に貢献した可能性があるかと考察している。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

著者は本研究において、転写因子 MafB が C1q 発現誘導において重要な役割をはたすという新たな知見を見出した。本研究は多数の実験的解析により、緻密かつ論理的に構成されている。近年、C1q は、自己免疫疾患をはじめとする多くの難治性病態において重要な役割をはたすことが明らかにされており、本論文はそれらの病態の理解と新たな治療法の開発につながる可能性をもった、優れた学位論文と評価される。

平成 28 年 7 月 19 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。