

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業  
難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究  
分担研究報告書

Glycoprotein non-metastatic melanoma protein B (GPNMB) 発現は  
急性肝障害/急性肝不全の予後に相関し肝再生・修復に關与する

研究分担者 井戸 章雄 鹿児島大学学術研究院医歯学域医学系  
消化器疾患・生活習慣病学 教授

研究要旨：急性肝不全は予後不良な疾患であり、新規治療薬の開発は重要な課題である。そのためには急性肝不全の病態を明らかにする必要がある。我々は以前より Glycoprotein non-metastatic melanoma protein B (GPNMB) という糖蛋白に着目し、急性肝不全における役割について解析してきた。今回ヒト急性肝障害、急性肝不全症例の血清および肝組織における GPNMB 発現について検討した。急性肝不全症例では血清 GPNMB 値が有意に高値で、特に昏睡型では ALT 改善後にピークに達し、MELD score のような予後因子と相関した。肝組織でも重症度に比例して GPNMB 発現が増強していた。またその GPNMB 発現細胞は CD68 陽性マクロファージ (MAC)、特に CD206 中等度発現、CD163 高度発現する M2c MAC であった。ヒト末梢血単球由来マクロファージでも M2c MAC に GPNMB は強発現していた。GPNMB は急性肝不全において肝組織中の M2c MAC に強発現し、急性肝不全からの肝再生、修復への関与が示唆された。

共同研究者  
鹿児島大学大学院消化器疾患・生活習慣病学  
熊谷 公太郎 先生

A. 研究目的

急性肝不全 (ALF) は予後不良な疾患である。昏睡型に移行すると、内科的救命率は低く、肝移植が唯一の救命手段になる。しかしながら、本邦は生体肝移植がほとんどであり、ドナー不足から移植待機中の死亡例も存在する。肝移植以外の新規治療薬の開発は重要な課題であるが、そのためには急性肝不全の病態を明らかにする必要がある。

以前より我々は Glycoprotein non-metastatic melanoma protein B (GPNMB) という糖蛋白に着目している。GPNMB はヒ

トメラノーマ細胞から単離された分子であり、様々な癌細胞の浸潤、転移に關与していると報告されている。一方で、免疫細胞であるマクロファージや樹状細胞にも GPNMB は発現し、リンパ系造血幹細胞の成熟促進や T 細胞の活性化抑制などの作用がある。我々の検討でも、急性肝障害モデルマウスにおいて修復期に浸潤してくるマクロファージに GPNMB が発現し、高い貪食能を有することを明らかにした。ヒトにおいては、非アルコール性脂肪肝炎やアルコール性肝炎で血清 GPNMB 値が上昇すること、肝硬変症例の肝組織内に GPNMB 発現マクロファージが浸潤していることが報告されているが、未だ不明な点が多い。

今回我々はヒト急性肝障害 (ALI)、急性肝不全 (ALF) における血清および肝組織中

GNPMB の発現と予後との関連について解析し、さらにその役割について検討した。

## B. 研究方法

2006年6月1日から2018年12月30日までに鹿児島大学病院消化器内科に入院したALI、ALFの症例のうち、経過中に血清が少なくとも3回以上測定可能であった56例を対象とした単施設後方視的観察研究である。

検討1) 臨床背景

検討2) 血清GNPMB値の経時的推移と予後との相関

検討3) 肝組織中GNPMB発現の比較と肝組織におけるGNPMB発現細胞の表現型

検討4) ヒト末梢血単核細胞(PBMC)から単離された単球由来マクロファージにおける表現型とGNPMB発現の比較

検討5) ヒトALI、ALF症例のPBMCにおける表現型の比較

(倫理面への配慮)

本研究は、患者個人への同意取得はしないが、鹿児島大学病院ホームページ上に本研究の実施を公開し、研究対象者またはその代諾者が研究の対象になることを拒否できる機会を保障した。研究対象者は、匿名化され、個人の特長ができないように配慮してデータベース作成しファイルにはパスワードを設定した。データベースには、通し番号・年齢・性別・診断名・診断日・および経過中の検査成績が含まれるが、個人識別情報や要配慮個人情報には含まれない。また、提供された資料は本研究のためだけに使用する。

## C. 研究結果

検討1) ALIが23例、急性肝不全非昏睡型(ALF-NC)が23例、昏睡型(ALF-C)が

10例であった。ALF-CでASTおよびALTが有意に低値で、MELD score、MELD-Na score、SOFA scoreはALF-Cで有意に高値であった。ALF-Cでは10例中4例生存、3例肝移植、3例死亡となっており、ALI、ALF-NCでは死亡例はなかった(Table 1)。

検討2) ALIに比し、ALFで血清GNPMB値

TABLE 1 Patient characteristics.

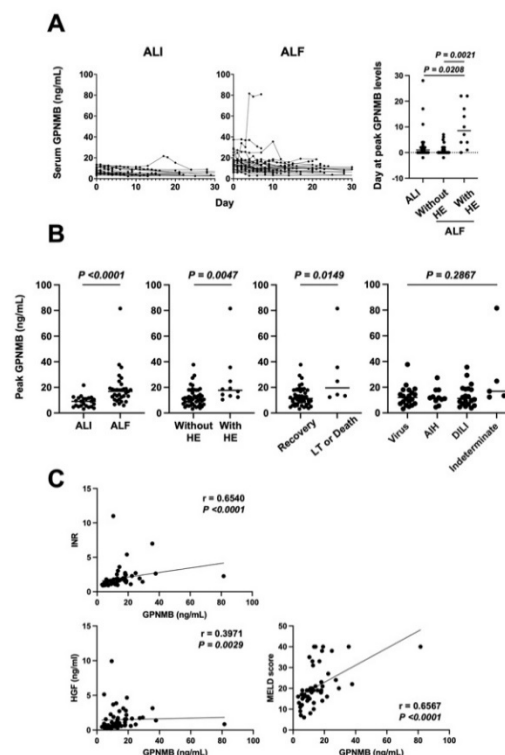
	ALI	ALF without HE	ALF with HE	p-value
Median (Min-Max)				
Age (years)	55 (19-83)	60 (26-72)	49 (19-72)	0.0079
Sex (Male/Female)	10/12	6/7	5/5	0.2388
INR	1.13 (0.86-1.43)	1.67 (1.34-2.53)	2.55 (1.57-5.43)	<0.0001
Aspartate aminotransferase (U/L)	437 (45-6489)	2324 (176-43335)	519 (128-6424)	0.0068
Alanine aminotransferase (U/L)	891 (65-6131)	3126 (125-64878)	718 (248-5481)	0.0210
Total bilirubin (mg/dL)	6.1 (0.96-16.1)	5.2 (1.7-20.0)	9.3 (4.1-23.2)	0.2550
Creatinine (mg/dL)	0.69 (0.46-1.91)	0.64 (0.44-2.27)	1.13 (0.45-5.90)	0.2454
MELD score	15 (8-20)	19 (11-31)	39 (13-40)	<0.0001
MELD-Na score	17 (8-23)	22 (12-32)	39 (13-40)	<0.0001
SOFA score	3 (3-5)	3 (1-8)	8 (4-16)	<0.0001
Etiology (Virus (HAV/HEV/HCV/EBV or CMV)/Autoimmune Hepatitis/Drug-induced liver injury/Idiopathic)	8 (2/0/0/2/0)	11 (0/0/0/0/3/0)	1 (0/0/0/0/0)	0.75
Liver failure (Absent/Present)	23/0	6/23	0/10	<0.0001
Development of hepatic encephalopathy (Absent/Present)	23/0	23/0	0/10	<0.0001
Clinical outcome (Survived/Liver transplantation/Death)	23/0/0	25/0/0	4/3/3	<0.0001

MELD, Model for End-Stage Liver Disease; SOFA, sequential organ failure assessment; HAV, hepatitis A virus; HEV, hepatitis E virus; HCV, hepatitis C virus; EBV, Epstein-Barr virus; CMV, cytomegalovirus; ALI, acute liver injury; ALF, acute liver failure; HE, hepatic encephalopathy; INR, international normalized ratio.

は経時的に高値を示していた。また血清GNPMB値のピーク値は、ALIおよびALF-NCではALTのピークと同様であったが、ALF-CではALTのピーク後に血清GNPMB値がピークに達していた。また血清GNPMB値のピークはALF-C症例、肝移植例/死亡例において有意に高値で、PT-INR、HGF、MELD scoreと有意に相関していた(Figure 1)。

検討3) ALI 4例、ALF-NC 4例、ALF-C 4

Figure 1.



例（コントロールとして正常肝（NL）4例）の肝生検組織または術後摘出標本を用いて解析した。予後に相関して、CD68 陽性マクロファージ、GPNMB の発現が有意に高値であった。また GPNMB 陽性細胞は CD68 陽性マクロファージであり、最も GPNMB 発現が強かった ALF-C の肝組織では、CD80 および CCR7 陰性、CD206 中等度陽性、CD163 強陽性の表現型を示していた（Figure 2, 3）。

検討 4) ヒト PBMC 由来の単球から M0、M1、M2a、M2b、M2c マクロファージを誘導した。GPNMB は M0 および M2c マクロファージで mRNA 発現が有意に高く、M2c マクロファージは CD80 および CCR7 陰性、CD206 中等度陽性、CD163 強陽性の表現型を示し、GPNMB が最も強く発現していた（Figure 4）。

検討 5) ALI および ALF 56 例のうち、34 例で PBMC が採取可能であり、ALI 11 例、ALF-NC 17 例、ALF-C 6 例で PBMC より mRNA を抽出し解析した。ALI に比し、ALF では CCR7 および IL-6 といった M1 マーカーが有意に低下し、M2 マーカーである CD163 は有意に増加した。また GPNMB 発現も有意に高値であった（Figure 5）。

Figure 2.

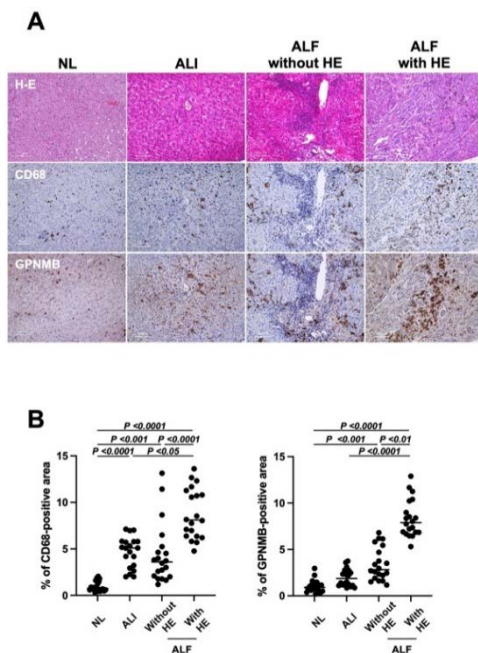


Figure 3.

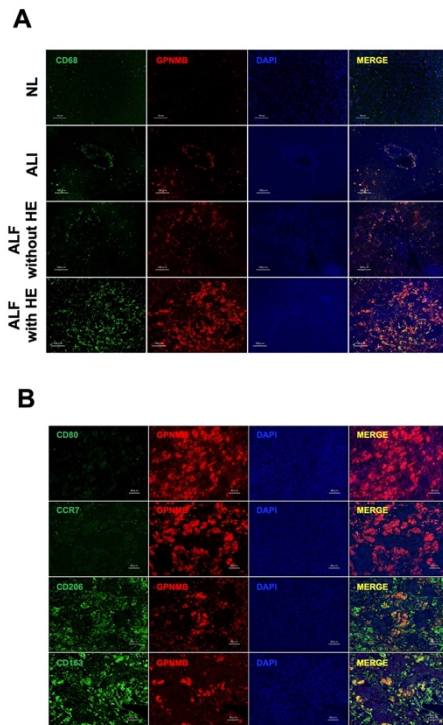


Figure 4.

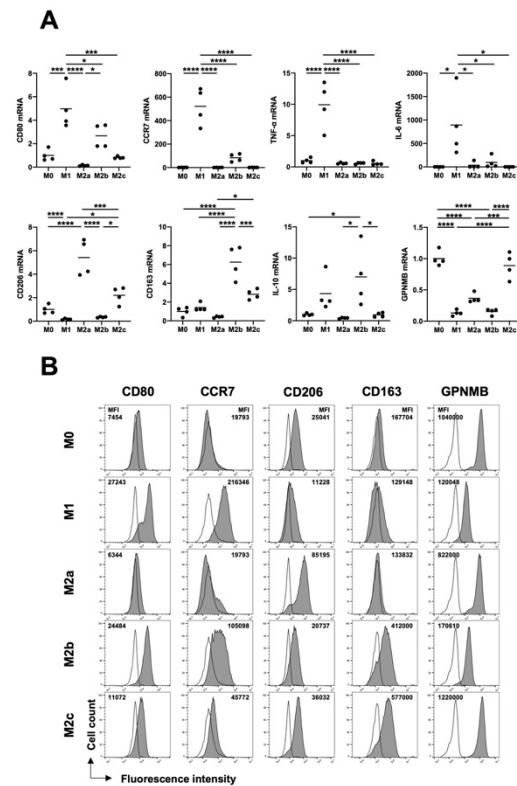
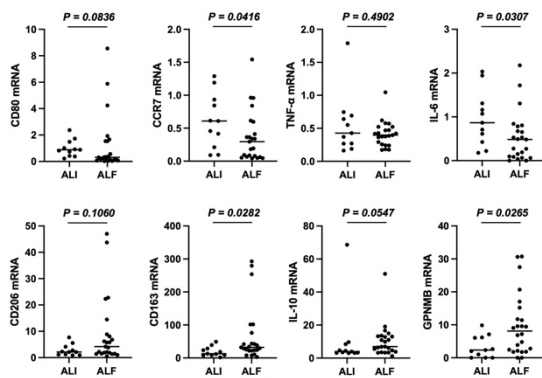


Figure 5.



#### D. 考察

本研究では、ALF、特に ALF-C で血清 GPNMB 値が上昇し、そのピーク値は ALI および ALF の重症度および予後と相関した。障害肝組織に浸潤する M2c マクロファージにおける GPNMB の発現は重症度とともに増加し、ALF 症例の PBMC では、ALI 症例の PBMC と比較して GPNMB と CD163 が高発現していることを確認した。

以前、我々は四塩化炭素誘導急性肝障害モデルマウスで GPNMB の発現が急性肝障害の修復期に浸潤してくるマクロファージに強発現することを報告した。そこでヒト ALI および ALF 症例でも ALT のピーク後に血清 GPNMB 値が上昇するのではないかと考えた。実際に ALI および ALF 症例において血清 GPNMB 値は ALT のピークと同じタイミングか、ALT がピークに達した後に上昇した。特に ALF-C 症例は、ALI 症例に比し、血清 GPNMB 値が持続的に高く、そのピークは ALT のピーク到達後、遅れて上昇し、急性肝障害モデルマウスと同等の反応を確認できた。またその血清 GPNMB のピーク値は急性肝不全の重症度、予後を示す PT-INR、HGF、MELD score と相関したため、血清 GPNMB 値のピークが予後を反映する可能性が示唆された。

ALI および ALF 症例の肝組織中に浸潤す

るマクロファージに GPNMB が発現していた。血清だけでなく、肝組織中の GPNMB 発現量も重症度、予後と相関し、重要なことはその発現細胞は免疫抑制型の細胞である M2c マクロファージに高発現していたことである。通常、M2c マクロファージは組織修復に重要な役割を果たしているため、GPNMB は肝障害の修復期に誘導されると考えられる。しかしながら、我々の検討では予後不良な ALF-C において最も強く発現しており、その発現にも関わらず、肝組織の修復が得られていなかった。このことは、肝障害の発症時に過剰な肝細胞障害が生じ、全身性炎症反応症候群 (SIRS) に移行すると、肝再生・修復のため、代償性抗炎症反応症候群 (CARS) が生じる。この病態が ALF-C 症例では過剰に誘導されており、本来免疫抑制系の指標となる GPNMB が持続的にかつ強く誘導されていると推測する。

#### E. 結論

血清 GPNMB 値の持続的高値とそのピーク値は、ALI および ALF の重症度と予後を反映していた。さらに、GPNMB は障害肝組織に浸潤する M2c マクロファージに発現していた。血清 GPNMB 値の上昇は肝障害の修復期を反映すると考えられるが、持続的な高値は過度の肝障害後の再生不全を示している可能性がある。従って、血清 GPNMB 値の持続的高値は ALI や ALF 症例の予後予測マーカーになりうる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kumagai K, Kanmura S, Mawatari S, Nakamura Y, Eguchi H, Taniyama O, Toyodome A, Ijuin S, Sakae H, Tabu K, Oda K, Shimata K, Hibi T and Ido A. Glycoprotein non-metastatic melanoma

protein B expression correlates with  
the prognosis of acute liver  
injury/failure. Front. Cell Dev. Biol.  
11:1242152 (2023).

2. 学会発表  
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし