

新たな肝線維化マーカーとしての オートタキシンについて

いけ だ ひとし
池 田 均
Hitoshi IKEDA

はじめに

オートタキシンは 1992 年に、ヒト悪性黒色腫細胞株 A2058 の培養上清中より、細胞運動促進活性を有する因子として抽出された糖蛋白質である¹⁾。悪性細胞に関連して発見された細胞運動を促進する autocrine 因子として、癌の転移や浸潤に関与する可能性が注目された。実際に、発見以後、teratocarcinoma や肺の非小細胞癌、甲状腺癌におけるオートタキシンの発現亢進の報告が相次ぎ、乳癌や多型膠芽腫の浸潤性とオートタキシンの関連も明らかとなり、腫瘍生物学分野において重要な因子と考えられるようになった²⁾。このオートタキシンの作用機序は、発見後 10 年経過した 2002 年、わが国の別々の研究室からの報告により明らかとなった。すなわち、脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸 (lysophosphatidic acid、以下 LPA) の産生酵素のリゾホスホリパーゼ D のクローニング解析の結果、オートタキシンがリゾホスホリパーゼ D であることが明らかとなったわけである (図 1)^{3,4)}。

LPA はリゾリン脂質に分類され、線維芽細胞、平滑筋細胞、角化細胞 (ケラチノサイト) の増殖、血小板凝集、平滑筋収縮を促進し、腎近位尿管細胞の生存を誘導するなど、種々の細胞に多彩な作用を及ぼすことが明らかとされてきた生理活性脂質である。血液中のレベルは約 $0.1\mu\text{M}$ であり、この濃度の LPA は *in vitro* で細胞に種々の作用を及ぼすことが報告されている。さらに、現状で 6 種類の G 蛋白質共役型受容体 ($\text{LPA}_1 \sim \text{LPA}_6$) が存在し、これらが種々の組織に発現していることが明らかとなっている。これらの知見に基づき、LPA は生体内でも何らかの役割を果たしていると考えられてきた。実際に、受容体欠損マウスにおける検討から、LPA は神経系の発達に必須であり、神経因性疼痛や肺線維症、妊娠着床、発毛などに重要な作用を及ぼしていることが報告されている⁵⁾。

オートタキシンは、この多彩な作用を有する LPA の産生に必須な酵素であり、それまでオートタキシンの作用と考えられていた多くのものは、オートタキシンにより産生される LPA の作用によるものであると考えられるようになった。

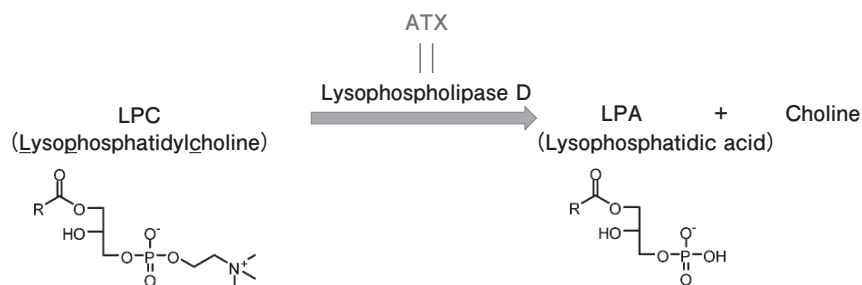


図 1 オートタキシン (ATX) は脂質メディエーターの LPA 産生酵素である。

I. オートタキシンと肝線維化について

肝線維化の研究については、オートタキシン発見の少し前、1990年前後に、肝線維化過程で肝星細胞が活発に増殖し、コラーゲンを主とした線維成分を産生することにより重要な役割を果たすことが明らかとなり、同細胞をターゲットとした検討、解析が精力的に行われることとなった。筆者も、肝線維化機序解明と治療法確立を目的とし、とくに促進因子の発見を目指していたが、その候補としてオートタキシンおよびLPAについて着目した。まず、*in vitro*の検討より、LPAが星細胞増殖を促進することを明らかにした⁶⁾。星細胞は肝臓特有の血管構造である類洞を取り囲むように存在するため、同細胞の活発な収縮は類洞内圧、ひいてはこれに繋がる門脈圧を上昇させると推定されているが、LPAがRhoの活性化を介して収縮促進作用を有することも確認できた^{7,8)}。さらに、以前は不可逆的過程と考えられた肝線維化が可逆的に改善し得ること、肝線維化改善過程で星細胞がアポトーシスを起こすことが知られている。この星細胞アポトーシスをLPAはRho活性化を介して抑制することも明らかとすることができた⁹⁾。これらの*in vitro*の知見は、LPAが肝線維化を促進する因子であることを強く示唆するものであり、オートタキシンとLPAが*in vivo*において肝線維化促進因子として働いている可能性を探ることとなった。このため、オートタキシン遺伝子、LPAについては受容体遺伝子発現を亢進ないし軽減させた個体を作成し、表現型を調べるとの手法を採用したが、肝線維化に変化は認められなかった。LPAと構造が類似する、別のリゾリン脂質メデイエーターであるスフィンゴシン1リン酸も同様に*in vitro*レベルで星細胞に作用し、その受容体欠損マウスで肝線維化が軽減するなど明らかな変化が観察されていることは対照的である。一つの原因として肝臓におけるLPA受容体発現が低いことが挙げられる¹⁰⁾。いずれにせよ、LPAおよび、その産生酵素であるオートタキシンが肝線維化にprimaryに関与する可能性は低いと考えられた。

II. 肝線維化マーカーとしてのオートタキシン

オートタキシンの肝線維化促進因子としての意義は大きいものではないとの結果が得られたものの、この検討過程で興味深い知見が明らかとなった。すなわち、血中オートタキシン活性およびLPAレベルは慢性C型肝炎症例で、対照健常群に比較して有意に亢進しているという結果である。これらの症例で他の肝機能マーカーとの関連を検討したところ、血中オートタキシン活性およびLPAレベルはアルブミン、プロトロンビン時間といった肝合成能の指標と強く相関することが確認され、肝線維化の進展に伴い低下する血小板とは負の相関を示す一方、肝細胞障害の程度を示す血清ALTとは相関を認めなかった。さらに、線維化マーカーとしてヒアルロン酸との関連を調べたところ、強く相関することが明らかとなった。実際に、肝生検により組織学的に線維化診断が可能であった例における解析で血中オートタキシン活性およびLPAレベルは強く肝線維化と相関することが確認された¹¹⁾。

この検討で、血中オートタキシン活性とLPAレベルが、非常に良く相関するという示され、それまで、オートタキシンなどの産生系とlipid phosphate phosphohydrolasesなどの分解系のバランスにより決定されると考えられてきた血漿LPAレベルは、実際は産生系のオートタキシン活性により強く規定されることが判明した¹¹⁾。

なぜ、肝線維化において血中オートタキシン活性が上昇するかについては、産生系亢進、代謝系低下が可能性として考えられた。まず、少なくとも線維肝におけるオートタキシン発現亢進は認められなかった¹²⁾。オートタキシンは脳神経系、胎盤、卵巣など発現が強い臓器はあるものの、種々の臓器で広く発現していることが知られており、血中オートタキシンが、どの臓器、場所で産生され、どのように代謝、分解されるかは不明であったが、ラットにおける放射線同位元素によりラベルしたオートタキシンの体内動態の検討により、肝類洞内皮細胞で取り込まれ分解されることが明らかとなった¹³⁾。肝線維化過程において、類洞内皮細胞は形質転換して種々

の受容体を失い、類洞自体も *capillarization* を起こすことが知られている。従って、同過程で類洞内皮細胞によるオートタキシン取り込みが減少することにより、血中オートタキシンレベルは上昇するものと推定される(図2)¹⁴⁾。興味深いことに、肝線維化の血液マーカーとして用いられているヒアルロン酸も同様に類洞内皮細胞により代謝される。いずれにせよ、肝線維化が進展すると、類洞内皮細胞の形質転換に伴い、同細胞での血中オートタキシン取り込みが低下することにより、血中レベルが上昇し、結果として血中 LPA レベルも亢進すると考えられる。

筆者らは、この肝線維化に伴う、血中オートタキシンおよび LPA 上昇に着目して診断への応用を検討した。測定については、血小板にも多く含まれる LPA は血漿検体が必要であり、検体保存には厳密な温度管理を要する一方、オートタキシンについては血清検体測定でき、検体も通常の保存によって安定であることが判明していた。そこで、オートタキシンの抗原量の自動分析機器による測定系を確立して、肝線維化マーカーとしての有用性検討に着手した。慢性 C 型肝炎障害例において、肝線維化診断能はヒアルロン酸、APRI (AST と血小板比) を上回る結果が得られ¹⁵⁾、これに基づき新たな肝線維化マーカーとしてのオートタキシン臨床応用を目指して、文部科学省橋渡し研究加速ネットワーク採択(研究代表者、矢富裕)等により、測定試薬の臨床性能試験を実施した。得られた成績により、体外診断用医

薬品としての薬事承認(2017年5月)を経て保険収載(2018年6月)となった。

この間に、オートタキシンの血中マーカーとしての評価は、われわれ以外の研究グループにおいても活発に行われ、やはりわが国発の新規肝線維化マーカーである M2BPGi と比較すると、初期の肝線維化(F2)の診断に優れていることが報告されている¹⁶⁾。総じて、B および C 型ウイルス肝炎における肝線維化マーカーとしての成績は良好で、相対的に脂肪肝の線維化診断能は、やや劣るとの結果が得られている¹⁷⁾。ただ、最近、脂肪肝の病理学的所見である肝細胞の *ballooning* と血中オートタキシンレベルの相関が報告されており、注目される¹⁷⁾。

肝炎患以外では、いままでのところ、妊娠¹⁸⁾、濾胞性リンパ腫¹⁹⁾、膵癌の一部²⁰⁾での血中レベル亢進の報告があるのみで、腎疾患、心疾患、糖尿病などでの変化は少ないことが分かってきた。また、食事の影響も受けない²¹⁾。以上よりオートタキシンは疾患特異性が高く、使いやすい肝線維化マーカーと言える。今後、肝線維化のバイオマーカーとしての意義は、さらに多くの症例で明らかにされるものと期待される。

おわりに

本稿ではオートタキシンが肝線維化マーカーとして評価されるに至った経緯について、われわれの明

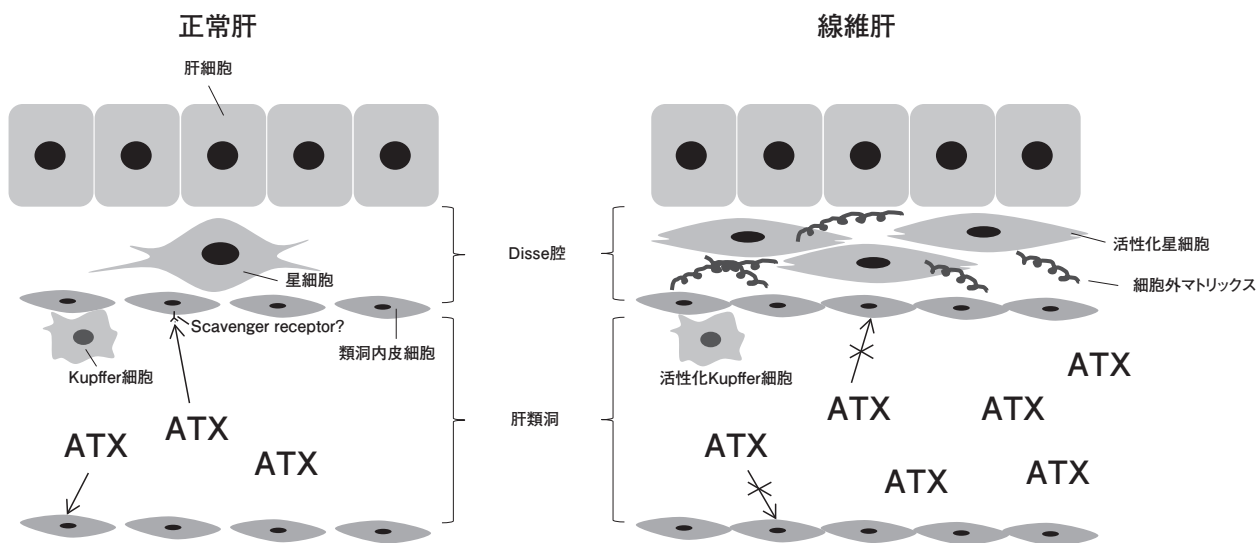


図2 オートタキシン(ATX)の肝線維化における血中レベル上昇の機序(文献14より改変)

らかにした知見に基づき紹介した。今後、オートタキシンについては、肝線維化マーカーとしてと共に、肝病態生理に関与する可能性についても解明が進むことが期待される。

文 献

- 1) Stracke ML, Krutzsch HC, Unsworth EJ, et al. Identification, purification, and partial sequence analysis of autotaxin, a novel motility-stimulating protein. *J Biol Chem.* 1992; **267**: 2524-2529.
- 2) Nakanaga K, Hama K, Aoki J, et al. Autotaxin - an LPA producing enzyme with diverse functions. *J Biochem.* 2010; **148**: 13-24.
- 3) Tokumura A, Majima E, Kariya Y, et al. Identification of human plasma lysophospholipase D, a lysophosphatidic acid-producing enzyme, as autotaxin, a multifunctional phosphodiesterase. *J Biol Chem.* 2002; **277**: 39436-39442.
- 4) Umezū-Goto M, Kishi Y, Taira A, et al. Autotaxin has lysophospholipase D activity leading to tumor cell growth and motility by lysophosphatidic acid production. *J Cell Biol.* 2002; **158**: 227-233.
- 5) Okudaira S, Yukiura H, Aoki J, et al. Biological roles of lysophosphatidic acid signaling through its production by autotaxin. *Biochimie.* 2010; **92**: 698-706.
- 6) Ikeda H, Yatomi Y, Yanase M, et al. Effects of lysophosphatidic acid on proliferation of stellate cells and hepatocytes in culture. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; **248**: 436-440.
- 7) Yanase M, Ikeda H, Matsui A, et al. Lysophosphatidic acid enhances collagen gel contraction by hepatic stellate cells: association with rho-kinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; **277**: 72-78.
- 8) Yanase M, Ikeda H, Ogata I, et al. Functional diversity between Rho-kinase- and MLCK-mediated cytoskeletal actions in a myofibroblast-like hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; **305**: 223-228.
- 9) Ikeda H, Nagashima K, Yanase M, et al. Involvement of Rho/Rho-kinase pathway in regulation of apoptosis in rat hepatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003; **285**: G880-886.
- 10) Choi JW, Herr DR, Noguchi K, et al. LPA receptors: subtypes and biological actions. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2010; **50**: 157-186.
- 11) Watanabe N, Ikeda H, Nakamura K, et al. Both plasma lysophosphatidic acid and serum autotaxin levels are increased in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol.* 2007; **41**: 616-623.
- 12) Watanabe N, Ikeda H, Nakamura K, et al. Plasma lysophosphatidic acid level and serum autotaxin activity are increased in liver injury in rats in relation to its severity. *Life Sci.* 2007; **81**: 1009-1015.
- 13) Jansen S, Andries M, Vakemans K, et al. Rapid clearance of the circulating metastatic factor autotaxin by the scavenger receptors of liver sinusoidal endothelial cells. *Cancer Lett.* 2009; **284**: 216-221.
- 14) Ikeda H, Yatomi Y. Autotaxin in liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2012; **413**(23-24): 1817-1821.
- 15) Nakagawa H, Ikeda H, Nakamura K, et al. Autotaxin as a novel serum marker of liver fibrosis. *Clin Chim Acta.* 2011; **412**: 1201-1206.
- 16) Yamazaki T, Joshita S, Umemura T, et al. Association of serum autotaxin levels with liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Sci Rep* 2017; **7**: 46705.
- 17) Fujimori N, Umemura T, Kimura T, et al. Serum autotaxin levels are correlated with hepatic fibrosis and ballooning in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2018; **24**: 1239-1249.
- 18) Masuda A, Fujii T, Iwasawa Y, et al. Serum autotaxin measurements in pregnant women: application for the differentiation of normal pregnancy and pregnancy-induced hypertension. *Clin Chim Acta* 2011; **412**(21-22): 1944-1955.
- 19) Masuda M, Nakamura K, Izutsu K, et al. Serum autotaxin measurement in haematological malignancies: a promising marker for follicular lymphoma. *Br J Haematol* 2008; **143**: 60-70.
- 20) Nakai Y, Ikeda H, Nakamura K, et al. Specific increase in serum autotaxin activity in patients with pancreatic cancer. *Clin Biochem* 2011; **44**(8-9): 576-581.
- 21) Ikeda H, Kobayashi M, Kumada H, et al. Performance of autotaxin as a serum marker for liver fibrosis. *Ann Clin Biochem* 2018; **55**: 469-477.