生

物

コ

ー

ナ

ー

ミルクタンパク質 MFG-E8 の多様な機能

乳児栄養や母子免疫の他にアポトーシス，受精，血管新生などに働く成分がミルクには含まれている

多様な生物種の中で，生まれた後まで母体の成分（ミルク）に頼って成長するのは哺乳類だけである。哺乳類新生児にとってミルクは唯一の栄養源であり，健全な発育には必要不可欠である。ミルクはもともと新生児に食されるためにつくられており，多くの母親が「できれば育児用調製乳より母乳を」と考えるように，乳児栄養や母子免疫の観点からは多くの優れた機能が知られている。一方，ミルク中にはその生物学的機能，生理的役割が明確でない成分も未だ数多く存在する。

今回取り上げるミルクタンパク質，MFG-E8 (PAS6/7) は，当初ウシ乳脂肪球皮膜 (milk fat globule membrane; MFGM) を構成する主要成分として同定され⁽¹⁾ (図1)，乳脂肪球の輸送，分泌，安定化において重要な働きをすることが推測されて，主要栄養素としての乳脂質の補助的な分子として理解されていた。ところがここ数年

の間に，ミルク成分としてではなく，免疫，受精，血管新生など基本的な生物現象の場で MFG-E8 が重要な役割を果たすことが遺伝子欠損マウスを用いて明らかになりつつある。ここでは，これら生物現象における MFG-E8 の機能，作用機構を紹介するとともに，ミルク成分としての乳腺や乳児消化管での機能を推察し，哺乳類が種の繁栄のために獲得してきたミルクの生物学的意義について再考してみたい。

MFG-E8 とは

MFGM を構成する主要成分として同定された MFG-E8 は，これまでにウシ (PAS6/7, MGP53/57) のほか，ヒト (BA46, lactoadherin)，マウス (MFG-E8)，ラット (AGS) からその cDNA が単離されている。N 末端のシグナル配列に続き，上皮細胞成長因子

(EGF) 様ドメイン，血液凝固第 5 および第 8 因子に相同性をもつ C1, C2 ドメイン (discoidin ドメイン) から構成される。マウスの場合，EGF 様ドメインと C1 ドメインの間に，選択的スプライシングの結果生じるプロリン，スレオニンに富んだ P/T ドメインをもつアイソフォームも存在する (図2)⁽²⁾。

MFG-E8 は明確なシグナル配列をもつことから，細胞内で合成され，糖鎖修飾を受けた後細胞外へと分泌されるが，後述するように膜リン脂質と結合する性質があり，膜小胞の成分として細胞外へ放出されると推定される⁽³⁾。MFG-E8 の機能発現を考える上で，EGF 様ドメイン上に存在する RGD (R=アルギニン，G=グリシン，D=アスパラギン酸) モチーフと C1/C2 ドメインは特に重要である。それぞれインテグリン (特に $\alpha V\beta 3$ 型)，ホスファチジルセリンというパートナーと結合することにより 2 つの細胞をつなぐ橋渡しをする。後述する MFG-E8 の様々な機能はこれら 2 つのモチーフ構造に基づいている。

アポトーシス細胞のマーキング分子として

生体内で起こる様々なイベントで，様々な細胞が，様々な時期にアポトーシスを受け，細胞内容物をまき散らして周囲の細胞に悪影響を及ぼすことな

図1 ■ 抗 MFG-E8 抗体を用いて免疫蛍光染色した乳脂肪球皮膜。
右は左の写真の囲んだ部分の拡大。バーは 20 μ m

図2 ■ MFG-E8 の構造とミルク中における MFG-E8 の予想される機能

く、正常細胞とは区別され、速やかに消去される。この機構があってこそ、手足の指がきちんと5本になり、自身を攻撃するような免疫担当細胞が通常は産生されない。では、どのようにしてアポトーシス細胞がマクロファージに代表される貪食細胞によって除去されるのであろうか。

多くの研究者がこの謎に様々なアプローチした結果、本稿の主役である MFG-E8 が鍵を握ることが判明したのは極く最近のことである⁽⁴⁾。詳細は原報を参照していただくとして、MFG-E8 は次のようなメカニズムで作用するとされる。

①活性化状態のマクロファージがまず MFG-E8 を分泌する。

②次に、MFG-E8 はその C1, C2 ドメインを介してアポトーシス細胞膜表面上に露出してきたホスファチジルセ

リンを目指して結合する。

③結合した MFG-E8 によってマーキングされたアポトーシス細胞に対し、今度はマクロファージ自身が細胞表面に発現しているインテグリンを介して MFG-E8 上の RGD モチーフと結合してマクロファージによる貪食を誘導する。

要するに、MFG-E8 はマクロファージに対して、「どうか私を食べて下さい」とでも言っているような「eat me」シグナルを発することにより、アポトーシス細胞と貪食細胞の橋渡しをしていると理解できる。

精子表面に局在する卵レセプターとして

受精は生命現象のまさに最初の入り

口であり、種間での受精は厳密に規定されている。これがどのような機構に基づくのか、生物学の大きなテーマとして脈々と研究されてきた。端的に言えば、受精は精子表面に存在する分子と、卵の周りを取り囲む透明体 (zona pellucida) と呼ばれる細胞外コートあるいは卵表面自体に存在するタンパク質との相性で決まる。しかし、事はそれほど単純でなく、生物は幾重にもセキュリティを施し、間違った受精が起こらない仕組みを獲得している。これまでにも様々な分子が受精を規定する分子として同定されてきたが、精子膜表面に局在する MFG-E8 もその一つとして浮かび上がってきた。

透明体に存在するタンパク質を固定化し、この結合パートナーを精子膜表面タンパク質に求めた生化学実験がそもその始まりであり、それが MFG-E8 であり、前述の C1 あるいは C2 ドメインが結合パートナーとして必要不可欠という明確な結果が得られた。この結果をふまえて MFG-E8 欠損マウスを作製して受精の割合を詳細に調べたところ、MFG-E8 を欠損させた雄との掛け合わせでは、雌での MFG-E8 の発現に無関係に受精率は激減することが判明した⁽⁵⁾。逆に、雄が MFG-E8 を正常に発現していれば、雌の MFG-E8 の発現の有無にかかわらず、受精率に変化は見られない。MFG-E8 を発現しない精子は透明体に結合することはできないが、不妊治療でも問題になる運動性をはじめとするいわゆる受精

する可能性の高い精子の様々なパラメーターには一切変化がない。つまり、MFG-E8 が精子と卵を結びつける重要な働きをすることを強く物語っている。将来、MFG-E8 が不妊治療のターゲットになるかもしれない。

血管形成補助因子として

血管は損傷した組織が元通りになる際に種々の増殖因子、サイトカイン、栄養素の供給を確保するために急速に形成される。また、がん細胞の異常増殖を支える栄養素の供給路を形成するためにも異常に発達することが知られている。つまり、血管形成をいかに制御できるかは生体を正常に維持する際に非常に重要であり、血管形成機構は多くの研究者によりその詳細が明らかにされてきている。

血管の基本構成細胞である血管内皮細胞の増殖を促す血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) が、血管形成において最も重要な第一義的因子とされていた。しかし、生命体の維持に必要な血管形成は幾重にも制御をかけられている。血管内皮細胞が細胞外マトリクスに接着するとインテグリンを介したシグナルもまた細胞内へと伝えられ、VEGF 受容体に端を発するシグナルと統合され、血管内皮細胞の増殖へとつながる。早い話が VEGF-VEGF 受容体の発するシグナルだけでは血管形成は不十分ということである。インテグリン

と聞いてピンときた読者も多いだろう。血管形成での場でもインテグリンとの結合を介して MFG-E8 が活躍する⁽⁶⁾。

EHS 腫瘍細胞が合成・分泌する細胞外マトリクス上で血管内皮細胞を培養すると、VEGF に依存した血管形成が起こる。その際、MFG-E8 に対する特異抗体を共存させると血管形成が抑えられる。さらに、MFG-E8 欠損マウス由来血管内皮細胞では明らかに血管形成が起こらない。すなわち、MFG-E8 が血管内皮細胞のインテグリンと細胞外マトリクスとの結合を抑制し、適度に調節することで毛細血管の伸長を促していると推定される。

ミルク中の MFG-E8 の機能は？

MFG-E8 は乳幼児の胃内において消化酵素による分解から免れ、比較的安定に存在する。腸管の上皮細胞には $\alpha V\beta 3$ 型インテグリンが発現している。つまり、MFG-E8 が上皮細胞のインテグリンに結合し、基底膜への接着を制御して上皮細胞の増殖と腸管の発達・成熟を促す、という仮説が成り立つ。また、腸管の発達には血管新生も必要不可欠であり、上述の通り MFG-E8 は補助因子として血管新生には必須である。すなわち、上皮細胞と血管内皮細胞の両者をターゲットとして総合的に腸管の発達を促していると考えられる。ミルクを飲んでいる間に腸管

の成熟を完了して、離乳後に初めて遭遇する多様な食物に備えるというのは合目的性があるように思われる。

乳児期の腸管は粘膜上皮としてのバリア自体が未熟であると同時に、免疫系も不完全であるため、病原体の感染に対して無防備である。この乳児期の腸管での感染防御にミルクの成分が関与することを示唆する多くの報告がある。たとえば、ロタウイルスは乳幼児の感染症の原因の半数近くを占め、衛生状態の悪い地域での高い乳児死亡率の主な原因となっているが、Newburg らは、ミルクの MFG-E8 がロタウイルスに直接結合して強い感染阻害活性を示すことを報告している⁽⁷⁾。つまり、MFG-E8 は腸管を発達させることにより間接的に感染症防御にあたるだけでなく、感染源に直接作用して感染症を防いでいる。MFG-E8 様様である。

ホルスタイン種などの酪農牛では、搾乳をやめたり、子が離乳するとミルクはつくられなくなる。ミルクがつけられなくなった乳腺では、実質である乳腺上皮細胞がアポトーシスにより大量に死に至り、妊娠前の状態に速やかに戻ろうとする。受精後に起こる胚発生過程を除き、このように大量の細胞がアポトーシスを受けることは非常に稀である。つまり、離乳直後の乳腺ではアポトーシス細胞で溢れかえっていることになる。

大量のアポトーシス細胞を処理するには、貪食の前に正常細胞と区別する

図3 ■ 離乳に伴い退縮する乳腺における MFG-E8 の集積

アポトーシスを起こしたと推定される乳腺上皮細胞の周囲に MFG-E8 (緑色) が集積している。核は赤色で染色。バーは 50 μm 。写真中央の暗い部分が乳腺胞で、ここに通常ミルクが放出される。

ためにマーキングをする必要がある。ここで、もともとミルク中に大量に存在する MFG-E8 が使われる可能性はないだろうか？ 筆者らの最近の研究では、どうやら答えはイエスのようである (中谷ら、未発表データ)。アポトーシス細胞の周辺に MFG-E8 が集積しているのである (図3)。自ら合成・分泌した分子に自らの死を託す。生物は無駄なく、効率よく事を進めるようである。

ミルクの生物学的意義

ミルクタンパク質である MFG-E8 の機能がミルク以外の最近の研究から

明らかにされてきた。そこから推定される機能は、細胞と細胞、細胞とウイルス、あるいは細胞と細胞外マトリクスとの相互作用に関係するものである (図2)。ミルクに多く含まれるタンパク質の中には、*in vitro* の実験系で細胞に何らかの生理作用を示すタンパク質が MFG-E8 以外にも複数知られている。また、ミルクに特異的あるいは豊富ではあるが、その生理的意義が明らかではない糖質や脂質も存在する。今後、ミルクあるいはその成分に新規の生理機能が見つかる可能性がある。

鳥類や魚類などの卵生生物では、子が母親から授かるものは卵細胞を包む大きな卵 (卵黄と卵白) である。これらは孵化までの栄養源であり、特に卵黄は孵化後もしばらく子の体内に貯留して栄養成分や免疫因子を供給し続ける。哺乳類は、進化の過程で卵黄と卵白を捨てて母体胎盤を介して卵・胚に栄養成分などを供給する方法を選んだ。それと引き換えに、乳腺を発達させてミルクをつくり、生まれた子にこれを与えて食物を摂取できるまでの成熟を完成させる、というやや手間暇のかかるようにも思われる子育てをするようになった。別の見方をすれば、巧みな生存戦略でもあり、食物 (獲物) がなくても母体の成分をもとにしてミルクをつくり安定した組成の食物として子に与えることを可能にしている。さらに、自身の体でつくり出したミルクを乳房から子に直接与えることは、母子いずれにおいても神経系や内分泌

系に少なからず作用することから、きわめて高次の生物個体間 (母子間) の関係ということもできる。哺乳類は脊椎動物の中でも、脳・神経系や免疫系などで高度に発達した機能をもっている。ミルクにも予想を超えた高次の機能が備わっているのではと考えたくなるのは筆者だけであろうか。

- 1) I. H. Mather : *J. Dairy Sci.*, **83**, 203 (2000).
- 2) K. Oshima, N. Aoki, M. Negi, M. Kishi, K. Kitajima & T. Matsuda : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **254**, 522 (1999).
- 3) K. Oshima, N. Aoki, T. Kato, K. Kitajima & T. Matsuda : *Eur. J. Biochem.*, **269**, 1209 (2002).
- 4) R. Hanayama, M. Tanaka, K. Miwa, A. Shinohara, A. Iwamatsu & S. Nagata : *Nature*, **417**, 182 (2002).
- 5) M. A. Ensslin & B. D. Shur : *Cell*, **114**, 405 (2003).
- 6) J. S. Silvestre *et al.* : *Nature Med.*, **11**, 499 (2005).
- 7) D. S. Newburg *et al.* : *Lancet*, **351**, 1160 (1998).

(青木直人^{*1}, 中谷 肇^{*2}, 松田 幹^{*2},
*¹三重大学生物資源学部, *²名古屋大学大学院生命農学研究科)