Gadd34 regulates liver regeneration in hepatic steatosis

論文の内容要旨

主論文題名

Gadd34 regulates liver regeneration in hepatic steatosis

Hepatology　平成27年掲載予定

専攻部門　環境医科学専攻恒常性制御学
氏　　名　古谷　朋子
（主任教員　金子周一教授）

肝臓は、強靭な再生能を有する臓器である。実際に、マウスの肝臓は、70%肝切除後約10日で元の重量へと回復する。一方、脂肪肝では、切除後の肝再生が障害され、肝不全などの肝臓切除術後の合併症の誘因となっている。

脂肪肝による再生障害に、酸化ストレスや小胞体ストレスなど種々の細胞内ストレスが関与している。これらの細胞内ストレスに共通した生体応答として、alpha subunit of eukaryotic initiation factor 2 (eIF2α) のリン酸化を介した統合的ストレス応答が知られている。eIF2αのリン酸化は、生理的蛋白翻訳を抑制するとともに、ストレス誘導性転写因子activating transcription factor 4の翻訳を誘導し、転写因子C/EBP homologous protein (CHOP) の遺伝子発現などの増加を介して生体応答を引き起こす。統合的ストレス応答を制御する分子として、growth arrest and DNA damage-inducible 34 (Gadd34) が知られている。Gadd34は、eIF2αを脱リン酸化することにより、統合的ストレス応答を減弱させる。本研究では、Gadd34の機能喪失または獲得実験から、eIF2αリン酸化を介した統合的ストレス応答の増強が、脂肪肝における肝再生の障害を増悪し、一方で、統合的ストレス応答の軽減が、脂肪肝再生障害を軽減することを明らかにした。

2 週間の高脂肪食負荷 (HFD) により作成した中等度脂肪肝モデルに、70%肝切除を行い、脂肪肝再生過程における統合的ストレス応答について検討を行った。肝切除後に、脂肪肝群では切除後肝重量の回復が遅延し、肝再生過程における bromodeoxyuridine (BrdU) 陽性細胞数の減少と、terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) 陽性細胞数の増加を呈した。このことは、肝再生過程における細胞増殖の減少と細胞死の亢進が脂肪肝再生障害を引き起こすことを示唆している。また、脂肪肝再生障害と一致して、eIF2α のリン酸化・CHOP 発現が増強し、統合的ストレス応答の増強を認めた。

HFD 負荷 70%肝切除マウスの肝再生における統合的ストレス応答の重要性を検討するために、阻害剤投与、または経静脈的 Gadd34-siRNA 投与による肝臓特異的ノックダウン(Gadd34-KD)を用いて、Gadd34 機能阻害による解析を行った。両手法による Gadd34 機能阻害モデルでは、ともに、肝再生過程での eIF2α のリン酸化の増強、aspartate aminotransferase (AST)・alanine aminotransferase (ALT) 値の上昇、肝壊死巣の出現を呈した。Gadd34-KD では、脂肪肝再生過程において、アポトーシスの指標である活性型 caspase3 の発現の増加、TUNEL 陽性細胞数の増加を示し、また、細胞周期制御分子 cyclin D1 タンパク発現の減少、BrdU 陽性細胞数の減少を来した。さらに、tumor necrosis factor-alpha (TNFα) の発現が増加し、TNFα誘発性ネクローシスに関与する receptor-interacting serine-threonine kinase 3 (RIP3) の発現が誘導された。

肝臓特異的Gadd34過剰発現マウス (Gadd34-Tg)、及びアデノ随伴ウィルス(AAV)を用いた肝臓Gadd34過剰発現による検討を行った。Gadd34-Tgは、対照と同程度の脂肪肝を呈するものの、肝再生過程におけるeIF2αのリン酸化の軽減、肝臓重量の増加、ALT・AST値の軽減を示し、脂肪肝再生障害の軽減を呈した。次に、高度な脂肪肝を呈するレプチン受容体欠損db/dbマウスを用いた検討を行った。Gadd34遺伝子をコードするAAV (AAV-Gadd34) を経静脈的に投与し、肝臓Gadd34過剰発現db/dbマウスを作出し、脂肪肝再生障害への作用を解析した。db/dbマウスでは、肝再生が著しく障害されるが、AAV-Gadd34投与群では、肝切除後の肝臓重量の増加、ALT値の軽減を呈し、肝再生障害が軽減した。

本研究から、脂肪肝再生障害において、統合的ストレス応答が重要な役割を担うこと、さらには、統合的ストレスを制御するGadd34は、脂肪肝再生障害の治療標的となることを明らかにした。