

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791433

研究課題名(和文)オートファジーによる肝再生制御の分子機序解明に関する研究

研究課題名(英文) Impact of autophagy in liver regeneration

研究代表者

戸島 剛男 (Toshima, Takeo)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・共同研究員

研究者番号：40608965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：各実験系より以下の結果が得られた。(1)マウス再生肝においてオートファジー(AP)の発現は術後12時間後より高値となり以降漸減した。AP抑制によってcyclin D1の発現低下及び細胞周期S期の減少した。(3)オートファジーKOマウスでは、肝組織ATPの低下を認めるとともに、BrdU取込率の低下、血清ALT及びアポトーシス増加、ユビキチン化蛋白質の蓄積を認めた。ミトコンドリア(Mt)の障害を認めるとともに酸化関連酵素の低発現を認めた。以上より、APIは再生時の肝細胞で活性化し、肝再生に重要な役割を果たしていた。この機序としてはMtにおける酸化を介したエネルギー産生が重要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the activity of autophagy-associated pathways in liver regeneration after partial hepatectomy (PHx) in liver-specific autophagy-related gene 5 (Atg5)-knockout mice. Liver regeneration was severely impaired by 70% PHx, with a reduction in postoperative mitosis, but a compensating increase in hepatocyte size. PHx induced the intracellular ATP and beta-oxidation reduction, and injured cellular mitochondria. The accumulation of proteins marked with p62 or polyubiquitin indicated that the reorganization of intracellular proteins and organelles was impaired. Upregulation of p21 was associated with hepatocyte senescence, senescence-associated beta-galactosidase expression, irreversible growth arrest, and secretion of senescence-associated molecules, including interleukin-6/8. These findings indicate that autophagy plays a critical role in liver regeneration and in the preservation of cellular quality, preventing hepatocytes from becoming fully senescent and hypertrophic.

研究分野：医歯薬

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科

キーワード：肝再生 オートファジー

1. 研究開始当初の背景

肝癌患者に対する部分肝切除術においては、肝機能に合わせて切除量が規定されているが、病的肝(脂肪肝、NASH、糖尿病など)が背景にあり肝機能不良のため術後に良好な肝再生が期待できず(Bruix J, et al. Lancet 2009)、肝切除治療を断念する患者は日本では年間約3万5000人存在する。また、生体肝移植においては、ドナーの残肝の割合とレシピエント標準肝重量に対するドナー摘出肝の割合をもとに適応を決定し、近年では比較的安全にドナー・レシピエントともに良好な経過となっている(Jara P, et al. N Engl J Med. 2010)。しかしその一方で、ドナー肝の不足によって救命できない肝硬変(肝癌合併を含む)・劇症肝炎の患者を年間約1万8000人と多数認める。多くの犠牲と労力、そして医療経済的な負担をしいられながら肝切除・肝移植は定着してきたが(Schuppan D, et al. Lancet 2008)、現在我々は術後の肝再生制御という命題に直面している。この命題の克服は、肝癌及び末期肝硬変にとって残された最大の関門であり、行政機関含めた、肝切除・肝移植実施施設が

総力を挙げて優先的に取り組むべき課題である。

2. 研究の目的

現在、肝切除術・生体肝移植術における問題点の一つとして、術後肝不全及び small for size 症候群であり、いずれも術後の肝再生遅延が原因とされており、しばしば致命的

となる。今回我々はこの研究課題に対し、オートファジーを利用する。オートファジーは細胞内の蛋白質再編成とエネルギー産生に極めて重要な役割を果たしており、肝再生という高度に組織化された生命現象をコントロールする可能性は極めて高いと考えられるが、肝再生における役割はいまだ不明である。

今回の研究では、正常マウスの肝再生におけるオートファジーの動態評価の結果をもとに、オートファジーノックアウトマウスを用いた基礎的研究を行うとともに、種々の病態(脂肪肝・非アルコール性脂肪肝炎・肝硬変モデル)においてオートファジーの制御による肝再生治療実用化にむけた基礎的研究を行う。

3. 研究の方法

正常肝及び病的肝(大量肝切除後、脂質代謝異常に基づく脂肪肝・非アルコール性脂肪肝炎・糖尿病などの再生におけるオートファジーの役割を明らかにし、オートファジーの制御を利用した肝再生治療実用化を目的として研究を計画した。

A. オートファジーKO マウスを用いた肝再生におけるオートファジー抑制の影響に関する検討(コントロールマウスとの比較)

肝重量体重比、BrdU 取り込み率、肝組織 ATP、肝脂質量の変化、ミトコンドリアを介した酸化によるエネルギー産生を検討し、肝再生過程におけるオートファジーの役割を明らかにする。

B. 病的肝の再生過程における、オ

オートファジーの役割に関する検討

Aと同様の実験を病的肝(大量肝切除後、脂質代謝異常に基づく脂肪肝・非アルコール性脂肪肝炎・糖尿病など)で行い、病的肝における肝再生の分子機序解明をひも解く。モデルは下記の通りである。

大量肝切除モデル：90%肝切除モデル、脂肪肝・NASHモデル：高脂肪食ウェスティン試料、肝硬変モデル：CCl₄投与

4. 研究成果

各実験系より以下の結果が得られた。(1)マウス再生肝においてオートファジー(AP)の発現は術後12時間後より高値となり以降漸減した。AP抑制によってcyclinD1の発現低下及び細胞周期S期の減少した。(3)オートファジーKOマウスでは、肝組織ATPの低下を認めるとともに、BrdU取込率の低下、血清ALT及びアポトーシス増加、ユビキチン化蛋白質の蓄積を認めた。ミトコンドリア(Mt)の障害を認めるとともに酸化関連酵素の低発現を認めた。以上より、APは再生時の肝細胞で活性化し、肝再生に重要な役割を果たしていた。この機序としてはMtにおける酸化を介したエネルギー産生が重要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Toshima T, Shirabe K, Fukuhara T, Ikegami T, Yoshizumi T, Soejima Y, Ikeda T, Okano S, Maehara Y.

Suppression of autophagy during

liver regeneration impairs energy charge and hepatocyte senescence in mice. *Hepatology*. 2014 Mar 25.

[学会発表](計6件)

・第112回日本外科学会定期学術集会(2012年4月12日~14日、東京)パネルディスカッション

演題名:肝再生におけるオートファジーの生物学的意義

・第48回日本肝臓学会総会(2012年6月7日~8日、石川)パネルディスカッション

演題名:肝再生におけるオートファジーの生物学的意義

・第113回日本外科学会定期学術集会(2013年4月11日~13日、福岡)パネルディスカッション

演題名:肝再生におけるオートファジーの生物学的意義

・第50回日本外科代謝栄養学会(2013年7月4日~5日、東京)パネルディスカッション

演題名:肝再生におけるオートファジーの生物学的意義

・第67回日本消化器外科学会総会(2012年7月18日~20日、富山)一般演題(企画関連講演)

演題名:肝再生におけるオートファジーの生物学的意義

・第24回日本消化器癌発生学会(2013年9月5日~6日、石川)一般演題

演題名:肝細胞癌におけるオートファジーの生物学的意義

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

戸島剛男 (TOSHIMA TAKEO)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40608965

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし