

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861083

研究課題名(和文) 肝再生と発癌におけるSirt1-オートファジーシグナルの役割と革新的治療法の探索

研究課題名(英文) Role of autophagy and Sirt-1 signal 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)・研究員

研究者番号：40608965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000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)の活性化を認めた。(2)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、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。(3)肝再生が遅延する脂肪肝マウスにおいて、オートファゴソームの局在が細胞質から脂肪内へ変化していた。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、脂肪肝における肝切除後においてAPを介して脂肪代謝及び肝再生に寄与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Our findings indicate that lipid droplet suppress autophagic proteolysis in fatty liver regeneration. The survival rate after partial hepatectomy (PH) in db/db mice was 20%, which was significantly lower than in control mice. The liver regeneration within 48h after PH was significantly inhibited in db/db mice. The number of PCNA positive cells and the expression levels of cell cycle marker, cyclin D,E,A were lower in db/db mice. In regenerating liver, the protein level of LC3-II expression was higher in db/db mice, nevertheless, the expression of p62 was increased and the expression of cathepsin D, marker of proteolysis of autophagolysosome was decreased. Furthermore, electron microscopy revealed the localization of autophagosomes during liver regeneration was different. Autophagosomes mainly existed in cytoplasm in control mice, while in lipid drop in db/db mice. Autophagy therefore has the potential to serve as an important therapeutic target for the treatment of these disorders.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：オートファジー 肝再生 肝障害 脂肪肝

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)の活性化を認めた。(2)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、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。(3)肝再生が遅延する脂肪肝マウスにおいて、オートファゴソームの局在が細胞質から脂肪内へ変化していた。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、脂肪肝における肝切除後において AP を介して脂肪代謝及び肝再生に寄与することが示唆された。

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;60:290-300.

[学会発表](計8件)

・調 憲. 演題名：肝臓の再生研究におけるオートファジーの意義

第115回日本外科学会定期学術集会(2015年4月16日~18日、名古屋)一般演題

・松本佳弘. 演題名：脂肪肝マウスの肝切除後肝再生遅延におけるオートファジーの役割 第115回日本外科学会定期学術集会(2015年4月16日~18日、名古屋)一般演題

・戸島剛男. 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

・戸島剛男. 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

・戸島剛男. 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

・戸島剛男. 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

・戸島剛男. 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)

・戸島剛男. 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 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

なし

〔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：K10Q041877H

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者