

論文内容要約

論文題目

肝星細胞活性化における α 型ジアシルグリセロールキナーゼの機能的役割の解析

責任講座： 解剖学第二講座

氏 名： 清野 慶子

【要約】

肝障害は、ウイルスや細菌による感染、アセトアミノフェンやアルコールの過剰摂取など様々な原因により引き起こされ、障害が長期に及ぶと、組織修復反応として線維化が生じる。このプロセスにおいて、正常時ではビタミン A 貯蔵細胞として知られる肝星細胞 (hepatic stellate cells) が、transforming growth factor β (TGF- β) の刺激により protein kinase C δ (PKC δ) を介して活性化を受け、筋線維芽細胞 (myofibroblast) 様細胞に分化する。この活性化した肝星細胞によるコラーゲンなどの細胞外基質の過剰産生が線維化の基本的なメカニズムと考えられているが、未だ不明な点も多い。PKC δ は脂質二重膜構成成分である diacylglycerol (DG) により活性化を受けることから、DG の代謝が肝線維化過程で重要な役割を果たすことが考えられる。DG kinase (DGK) は、DG をリン酸化してホスファチジン酸に変換する酵素である。これまでに、肝臓では DGK アイソザイムのうち α 型 DGK (DGK α) のタンパク発現が報告されているが、同分子の肝障害への関与は未知のままである。

本研究では、DGK α 遺伝子欠損 (KO) マウスを用いて四塩化炭素 (CCl₄) による肝障害モデルを作製し、DGK α の機能的役割を精査した。CCl₄ 単回投与 48 時間の急性肝障害モデルの組織学的解析の結果、DGK α -KO マウスと野生型 (WT) マウスの間の組織損傷の程度に明確な差は認められなかったが、ウェスタンブロット解析の結果、DGK α -KO マウスにおいて活性化型肝星細胞マーカーである α -smooth muscle actin (α -SMA) のタンパク発現が著しく亢進することが明らかとなった。6 週間の連続 CCl₄ 投与による慢性線維化モデルにおいて、DGK α -KO マウスでは多くの肝細胞が腫大しており、WT マウスよりも組織損傷が重度であったが、線維化の程度に明らかな差は認められなかった。 α -SMA による免疫組織化学やウェスタンブロット解析の結果、DGK α -KO マウスでは α -SMA 陽性細胞が増加し、タンパク発現が著しく亢進していることが明らかとなった。さらに、DGK α -KO マウスでは PKC δ のリン酸化レベルが亢進しており、PKC δ による肝星細胞の活性化が亢進している可能性が示唆された。以上の結果より、DGK α 欠損状態では肝星細胞活性化が生じやすいことが示唆された。

次に、動物実験において見出された肝星細胞活性化機構を精査するため、マウス胎児筋線維芽細胞株である NIH3T3 細胞を用いて、TGF- β 刺激における DGK の関与を検討した。その結果、DGK 阻害剤 (R59949) 存在下では、TGF- β 刺激に応答した α -SMA の発現がコントロールに比べて亢進することが明らかとなった。したがって、TGF- β による NIH3T3 細胞の活性化は、DGK α 酵素活性が減弱することにより促進されることが示唆された。また、DGK 阻害剤投与群では、TGF- β シグナルの主要経路である Smad2 のリン酸化が亢進しており、TGF- β が Smad 経路の亢進を介して α -SMA の発現を惹起すると考えられた。さらに、DGK 阻害剤投与群では、TGF- β 刺激非依存的に PKC δ のリン酸化の増加も認められた。

以上の結果より、肝星細胞の活性化機構において、DGK の酵素活性低下は、TGF- β の主要分子である Smad 経路と PKC δ を介する非 Smad 経路の両者を亢進させると考えられた。慢性肝疾患は遷延すると肝線維化へと至るが、その根本的な治療法は未だ確立されておらず、不可逆的に肝硬変の段階へと進行する 경우가少なくない。本研究の結果は、DGK α が肝星細胞の活性化を抑制的に制御する可能性を示唆するものであり、DG-PKC 経路を標的とした治療的介入により肝障害が軽減される可能性がある。