研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-540		17-261	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

Ethanol sensitizes hepatocytes for TGF-β-triggered apoptosis.

エタノールは TGF-β惹起性アポトーシスを増幅する

執筆者

Gaitantzi H, Meyer C, Rakoczy P, Thomas M, Wahl K, Wandrer F, Bantel H, Alborzinia H, Wölfl S, Ehnert S, Nüssler A, Bergheim I, Ciuclan L, Ebert M, Breitkopf-Heinlein K, Dooley S.

掲載誌

Cell Death Dis. 2018; 9:51. doi: 10.1038/s41419-017-0071-y.

キーワード	PMID:
アルコール、アルコール性肝疾患、TGF-β、SMAD、アポトーシス	29352207

要　旨

目的：アルコール乱用は、脂肪肝、肝硬変、肝炎、そして肝細胞がん（HCC）を生じる健康問題である。TGF-βは、慢性肝疾患の線維化促進性サイトカインであり、アルコール性肝疾患（ALD）で発現が増加している。TGF-βの標準的な伝達経路は、TGF-β二量体の結合で活性化された受容体による SMAD2 と SMAD3 のリン酸で開始され、SMAD4 と相互作用した複合体の核内移行が生じ、遺伝子発現が調節される。他の伝達経路としては、TAK1 や PI3K/AKT、低分子量 GTPase に依存した経路がある。肝細胞で、TGF-βは上皮-間葉細胞分化転換を誘導して細胞増殖を停止し、アポトーシスを促進する。TGF-β発現が ALD で増加していることから、本研究は、肝細胞での TGF-βとアルコールの相互作用について検討した。

方法：C57BL/6 マウスから調製した初代培養肝細胞と、一部の実験は HCC 患者の HCC 組織を組織片培養して使用した。また、*in vivo* の実験では、雌性 C57BL/6 マウスを用いて、エタノール（6 g/kg）を経口投与後、肝臓遺伝子発現を測定した。アポトーシスはカスパーゼ-3 活性とアネキシン-V 染色で解析し、チトクローム C は免疫ブロット法で測定した。SMAD の転写活性はルシフェラーゼレポーターアッセイで測定した。細胞の電気抵抗［アポトーシス開始の指標］はマイクロ流路チップバイオセンサー［BIONAS 2500］で解析した。タンパク質は免疫ブロット法で、mRNA は qRT-PCR 法で測定した。

結果：エタノール（100 mM）自体は肝細胞のアポトーシスに影響しなかったが、TGF-β（5 ng/mL）は細胞死を誘導した。エタノールと TGF-βの同時処置は大幅なアポトーシスを導き、ヒト HCC 肝組織 *ex vivo* の結果でも同様であった。エタノールは、TGF-βによるアポトーシス促進性標的遺伝子（*Bim*、*Bik*、*Bmf*、*Gadd45a*）の発現を増強した。エタノールと TGF-β情報伝達経路の相互作用の機序には、SMAD 伝達経路［SMAD 標的遺伝子 CTGF や SMAD6 と SMAD7 の発現増加］と非 SMAD 伝達経路［AKT リン酸化の低下］が関与している。エタノールと TGF-βによる効果は、CYP2E1 やアルコール脱水素酵素の活性阻害では抑制されず、アルコール代謝の結果ではないことを示している。また、AKT 情報伝達下流の仲介因子である GSK-3βの阻害（SB216763）で、エタノールと TGF-βによるアポトーシスの増強は阻止された。

結論：本研究の結果は、エタノールと TGF-βとの間の相互作用について新たな知見を提示した。エタノールは TGF-βのアポトーシス促進性機能の増強をもたらし、このことが慢性 ALD の進展機序に関与していると考えられる。