研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-540		17-262	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

Role of A-kinase anchoring protein phosphorylation in alcohol-induced liver injury and hepatic stellate cell activation.
アルコール性肝障害と肝星細胞活性化における A-キナーゼアンカータンパク質リン酸化の役割

執筆者

Ramani K, Tomasi ML, Berlind J, Mavila N, Sun Z.

掲載誌

Am J Pathol. 2018 Mar;188(3):640-655. doi: 10.1016/j.ajpath.2017.11.017.

キーワード	PMID:
アルコール性肝障害、肝星細胞、線維形成、AKAP12、HSP47、足場タンパク質	29305319

要　旨

目的：アルコール性肝障害には肝星細胞（HSC）の活性化が関連している。アルコール摂取による肝障害で HSC は活性化過程に入り、活性化された HSC は、増殖的になり、線維化し、コラーゲンなどの細胞外マトリックス成分の発現を上昇する。コラーゲン産生の増加に関連した HSC の活性化は、アルコール性肝障害初期の線維化開始前にみられ、特異的シャペロンタンパク質である HSP47 によるコラーゲンの成熟が HSC の活性化で重要である。一方、HSC の活性化は A-キナーゼアンカータンパク質 12（AKAP12）の発現を誘導する。AKAP12 は、プロテインキナーゼ C（PKC）やサイクリン-D1（CycD1）の足場タンパク質であり、リン酸化によって制御され、時間空間的に細胞増殖や侵襲性、走化性を調節している。しかし、肝機能で AKAP12 が足場タンパク質として果たしている役割は不明である。エタノールを処置した HSC で AKAP12 のリン酸化が上昇することから、本研究では AKAP12 の足場タンパク質として機能について検討した。

方法：実験は、*in vitro* エタノールモデル（ヒト HSC と肝細胞、マウス HSC と肝細胞）、*in vivo* エタノールモデル（エタノール投与マウス HSC、エタノール投与マウス肝細胞）、ならびに、ヒトアルコール性肝炎の肝臓試料で行った。AKAP12 の相互作用は共免疫沈降法で、リン酸化タンパク質はホスホプロテオーム法と Phos-tag 法で解析した。mRNA は RT-CR 法で、タンパク質はウエスタンブロット法で測定した。。

結果：エタノールは、肝臓（*in vivo*）と初代培養 HSC で AKAP12 のリン酸化を誘導したが、肝細胞での誘導はなかった。PKC/CycD1 に対する AKAP12 の足場活性は、エタノール処理 HSC で低下したが、肝細胞では変化なかった。また、AKAP12 足場活性の低下はヒトアルコール性肝炎肝臓試料でも認められた。AKAP12 は HSC の活性化を抑制したが、この抑制はエタノールによる AKAP12 のリン酸化で回復した。HSC で AKAP12 は HSP47 と相互作用し、エタノールは AKAP12-HSP47 相互作用を抑制する。この抑制はエタノールによる AKAP12 のリン酸化で生じる AKAP12-HSP47 結合低下によるものである。一方、エタノールは HSP47 とコラーゲンの相互作用を増加した。RNA 干渉による AKAP12 の発現阻害で、コラーゲンに対する HSP47 のシャペロン機能は促進された。

結論：本研究の結果は、AKAP12 は HSP47 の足場タンパク質として機能し、HSP47 との結合によってコラーゲン-HSP47 相互作用を抑制していることを示している。また、エタノールは、リン酸化を介して AKAP12 の足場活性を抑制し、HSP47 に対する AKAP12 の抗線維形成活性を阻害して HSC の活性化を促進する。