研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-540		21-261	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

Alcohol promotes exosome biogenesis and release via modulating Rabs and miR-192 expression in human hepatocytes.
ヒト肝細胞でアルコールはRabとmiR-192の発現を修飾してエクソソームの生合成と遊離を促進する

執筆者

Bala S, Babuta M, Catalano D, Saiju A, Szabo G.

掲載誌

Front Cell Dev Biol. 2022; 9:787356. doi: 10.3389/fcell.2021.787356.

キーワード	PMID:
アルコール、肝細胞、エクソソーム、Rab、miR-192、シンタキシン、VAMP	35096820

要　旨

目的：エクソソーム（Exso）は生理的および病理的（アルコール曝露など）状態下で、種々の細胞から細胞外へ放出される膜小胞で、タンパク質や脂質、RNAを含んでいる。Exsoは細胞内情報伝達に関与し、様々な疾患の仲介物質として働く。肝炎患者肝臓やアルコール（Alc）投与マウスモデル、Alc 処置ヒト肝細胞で、Alc が Exso 分泌を増加することが報告されている。しかし、Exso 生合成、輸送、分泌に関与している遺伝子への Alc の効果は不明である。本研究は、ヒト肝細胞を用いて Exso の生合成と分泌に対するエタノールの効果を検討した。

方法：ヒト肝組織の実験には Alc 関連肝疾患（ALD）患者肝臓を使用した。*In vitro* の実験には、初代ヒト肝細胞とヒト肝癌由来細胞 Huh7.5 を使用した。細胞外小胞（Exso）の濃度とサイズはナノ粒子トラッキング解析で測定した。

結果：Alc 処置は、Exso 形成に関与している遺伝子発現を誘導した。Alc 曝露後、肝細胞の Rab（Rab1a、Rab5c、Rab6、Rab10、Rab11、Rab27a、Rab35）タンパク質 mRNA が増加した［Rab は膜輸送、融合、Exso の生合成と遊離に関与している］。ALD 患者肝臓では Rab5 や Rab6、Rab11 の誘導が認められた。さらに、肝細胞の Alc 処置で、Exso 生合成と分泌に関与しているシンテニン、小胞結合膜タンパク質（VAMP）、シンタキシン（STX）の誘導が生じた。また、Alc 処置細胞と ALD 患者肝臓で、VAMP3、VAMP5、VAPb、STX16 の mRNA が増加し、肝細胞では、これらの遺伝子の増加は Exso 分泌と関連していた。一方、肝細胞に豊富である miR-192 と miR-122 の量は、Alc 処置肝細胞で減少し、無細胞上清では増加していた。また、Alc 処置肝細胞では miR-192 と miR-122 の一次転写産物が減少し、Alc はこれらの miRNA に転写レベルで影響を与えていることが示唆された。miR-192 は Exso 分泌に関与する遺伝子（Rab27a、Rab35、STX7、STX16）に対して結合部位を有することがバイオインフォマティクス解析から推測されている。ヒト肝がん細胞での miR-192 の阻害（RNA 干渉）で、Rab27a、Rab35、STX7、STX16 が増加し、同時に Exso 分泌の増加が観察された。このことは、miR-192 は肝細胞で Exso 分泌を調節していることを示唆している。

結論：本研究の結果は、Alc は Rab 類や VAMP、STX 類を直接的に、ならびに、miR-192 を介して部分的に Exso 機構と遊離の誘導を調節していることを示し、Alc は Exso の生合成や輸送、分泌に関与している遺伝子に影響を与えて Exso 分泌を促進していることと、miR-192 は Alc による細胞ストレスでの Exso 分泌の調節因子であることを示唆している。