

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-540	22-276	元高崎健康福祉大学 八田慎一
<b>題名(原題/訳)</b>		
Enhanced Ca <sup>2+</sup> -channeling complex formation at the ER-mitochondria interface underlies the pathogenesis of alcohol-associated liver disease. ER-ミトコンドリア接触面での Ca <sup>2+</sup> チャネル体複合体形成の亢進がアルコール関連肝疾患発症機序の基盤である		
<b>執筆者</b>		
Thoudam T, Chanda D, Lee JY, Jung MK, Sinam IS, Kim BG, Park BY, Kwon WH, Kim HJ, Kim M, Lim CW, Lee H, Huh YH, Miller CA, Saxena R, Skill NJ, Huda N, Kusumanchi P, Ma J, Yang Z, Kim MJ, Mun JY, Harris RA, Jeon JH, Liangpunsakul S, Lee IK.		
<b>掲載誌</b>		
Nat Commun. 2023; 14(1):1703. doi: 10.1038/s41467-023-37214-4.		
<b>キーワード</b>		<b>PMID:</b>
アルコール関連肝疾患 ALD、ミトコンドリア、ER 膜、PDK4、GRP75		36973273
<b>要旨</b>		
<p><b>目的:</b> Ca<sup>2+</sup>過負荷で生じるミトコンドリア (Mit) 機能不全はアルコール関連肝疾患 (ALD) の発症機序に寄与する主要因子として考えられている。しかし、ALD で Mit Ca<sup>2+</sup>蓄積と機能不全を誘導する因子は良く分かっていない。Mit 接触 ER 膜 (MAM) は Mit 動的挙動やオートファジー、インフラマソーム形成を調節する情報経路の特異点として機能している。重要な機能として ER から Mit への Ca<sup>2+</sup>輸送の調節があり、Mit の代謝や呼吸の保持に働く。MAM で、Ca<sup>2+</sup>移送は GRP75、IP3R1、VDAC1 で構成されている MAM Ca<sup>2+</sup>チャネル体 (MCC) 複合体の形成で制御されている。MAM 形成の異常な増加は Mit の Ca<sup>2+</sup>過負荷と機能不全を生じるが、アルコールによる Mit の Ca<sup>2+</sup>蓄積や機能不全、アルコール誘導性肝障害に対する MAM の関与は検討されていない。本研究はこれらの点について、MAM 形成への関与が示されている PDK4 の役割も含めて検討を加えた。</p> <p><b>方法:</b> C57BL/6 マウス、<i>Pdk4</i> (<i>Pdk4</i><sup>-/-</sup>) 欠損マウス (<i>Pdk4</i>-KO)、肝細胞特異的 <i>Pdk4</i> (<i>Pdk4</i><sup>Hepd</sup>) 欠損マウス (<i>Pdk4</i>-hKO)、対照 (<i>Pdk4</i><sup>+/+</sup>) マウス (WT) と ALD 患者肝臓試料 (ALD-LT) を使用した。In vitro の実験にはマウス肝臓から調製した初代肝細胞 (PH) と AML12 細胞を使用した。マウスへは 5% エタノール (EtOH) Lieber-DeCarli 液体飼料を 10 日間を投与した。<i>Pdk4</i> の抑制は RNA 干渉 (siRNA) で行った。タンパク質相互作用は共免疫沈降法と免疫ブロット法、および in situ 近接ライゲーションアッセイ (PLA) で解析した。組織は透過型電子顕微鏡と免疫蛍光組織化学法で評価した。細胞内 Ca<sup>2+</sup>は 4mitD3-CPV を使用して、Mit の酸素消費は Seahorse XFe96 細胞外フラックスアナライザーで、mRNA は RT-qPCR 法で測定した。</p> <p><b>結果:</b> EtOH 投与 (ED) マウス肝臓と PH あるいは AML12 の EtOH 処置で MAM 形成が促進された。トランスクリプトーム解析から ED マウス肝臓で <i>Pdk4</i> の発現増加が示され、ALD-LT で PDK4 mRNA とタンパク質の発現が増加していた。EtOH は in vivo および in vitro で MCC 複合体形成を促進した。LC-MS/MS 分析から、GRP75 が PDK4 の下流リン酸化標的であることが示され、GRP75 非リン酸化変異体 (NPM) を用いた実験から、PDK4 は GRP75 のリン酸化を介して MCC 複合体形成と Mit Ca<sup>2+</sup>取込みを促進することが示された。EtOH による MCC 複合体形成と Mit の Ca<sup>2+</sup>蓄積や機能不全は、GRP75 NPM あるいは <i>Pdk4</i>-KO で阻止された。ER-Mit 架橋剤による異所的 MAM 形成誘導で、PDK4 欠損のアルコールによる肝障害に対する防御効果を失われた。</p> <p><b>結論:</b> 本研究の結果は、EtOH による肝 MAM Ca<sup>2+</sup>チャネル体複合体形成の異常な増加が Mit 機能不全を促進すること、ならびに ALD 発症機序 (Mit 機能不全) における、MAM の形成で仲介される PDK4 の因果的役割を示している。PDK4 は ALD 治療標的としての有望である。</p>		