

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-540	24-221	元高崎健康福祉大学 八田慎一
<b>題名(原題/訳)</b>		
Ethanol disrupts hepatocellular lipophagy by altering Rab5-centric LD-lysosome trafficking. エタノールは Rab5 を中心とする LD-リソソーム輸送を変化させ肝細胞リポファジーを障害する		
<b>執筆者</b>		
Schott MB, Rozeveld CN, Bhatt S, Crossman B, Krueger EW, Weller SG, Rasineni K, Casey CA, McNiven MA.		
<b>掲載誌</b>		
Hepatol Commun. 2024; 8(6):e0446. doi: 10.1097/HC9.0000000000000446.		
<b>キーワード</b>		<b>PMID:</b>
アルコール性脂肪症、脂肪滴、リポファジー、低分子量 GTPase、Rab5		38780316
<b>要旨</b>		
<p><b>目的:</b> アルコール関連肝疾患の初期段階は、肝細胞での脂肪滴 (LD) の異常な蓄積を生じる肝脂肪症で特徴付けられる。肝細胞の LD はエンドリソソームからの直接的な取込みによってリポファジー (Lpg) [オートファジーによる脂肪分解] で分解される。この過程は慢性エタノール (EtOH) 曝露によって抑制され、EtOH による脂肪症は、部分的に、Lpg による LD 異化の低下で生じる。Lpg では LD-リソソーム (Lyso) 輸送が、標準的なオートファゴソーム基質選択とは独立して生じる。一方、肝細胞での Lpg に対する EtOH の影響の詳細は良く分かっていない。本研究は Lpg で働いている肝細胞機構と、その過程の EtOH による変化について、LD 常在成分であり肝細胞 LD-Lyso の近接性と生理的相互作用で重要であることが報告されている初期エンドソーム関連低分子量 GTPase の Rab5 に焦点を当てて検討した。</p> <p><b>方法:</b> Wistar ラットを使用し、Lieber-DeCarli 液体飼料で EtOH を 6 週間投与し、ラットから初代肝細胞 (PH) を調製して解析を行った。また、V13 細胞と AML12 細胞を使用した。肝細胞は、免疫蛍光法 (Bodipy C12, Tf-568) と透過型電子顕微鏡で解析した。Atg5、Rab5、Rab7 の発現抑制は RNA 干渉 (siRNA) で行った。タンパク質相互作用は、免疫沈降法とプルダウン法で評価した。</p> <p><b>結果:</b> EtOH 負荷ラットの PH (EtOH-PH) や EtOH 処置 V13 細胞で、LD と Lyso との相互作用 (Lyso の LD 取込み) が低下し、Lpg の抑制が示唆された。VA13 細胞の Atg5 や Fip200 [オートファゴソーム関連タンパク質] の発現抑制は Lyso での LD 蓄積に影響しなかった。一方、Rab5 発現の抑制では、Lyso 依存性 LD 異化の阻害によって肝細胞の LD 蓄積を生じた。VA13 細胞への Rab5 の正常型 (WT) と構成的活性化型 (Q79L) の導入で LD-Lyso 輸送は維持されるが、優性阻害 GTPase 欠損 Rab5 (S34N) の導入では LD-Lyso 相互作用が阻害された。Tf-568 [初期エンドソームマーカー] を用いた解析から、Rab5 は Lyso 融合前に、LD 表面への初期エンドソーム/多胞体 (multivesicular body) 成分の動員を仲介することで、Lyso 依存性 LD 異化で機能していることが示された。EtOH-PH で LD での Rab5 の蓄積増加が生じた。VA13 細胞の Rab7 発現抑制や GTPase 阻害処置で、Rab5 の LD 局在が増加し、Rab7 の抑制は上流の Rab5 依存性エンドソーム輸送機序を障害することが示唆された。</p> <p><b>結論:</b> 本研究の結果は、Rab5 は初期エンドソームと LD の膜性プラットフォーム中間体として作用し、初期エンドソームを LD 表面へ動員して、生理的相互作用と融合を促進することを示している。本研究は、Rab5 が細胞での LD 異化を仲介することを示し、Rab5 はオートファゴソームによる Lpg とは独立して、LD-Lyso 輸送で重要であることを示唆している。また、慢性 EtOH 曝露は肝細胞の Rab5 と Rab7 の密接な平衡関係を障害して、Lyso と LD の接近性を低下させ Lyso 内腔への LD の接近を抑制して LD 異化を障害し、このことが肝細胞脂肪変性につながると示唆される。</p>		