

論文内容要旨

報告番号	甲 栄 第 310 号	氏名	NGUYEN THE ANH
題 目	All- <i>trans</i> retinoic acid induces lipophagy by reducing Rubicon in Hepa1c1c7 cells (Hepa1c1c7細胞においてall- <i>trans</i> レチノイン酸はRubicon発現の減少を介してリポファジーを誘導する)		
<p>ビタミンAの活性本体である all-<i>trans</i> レチノイン酸 (atRA) は、脂肪肝モデル動物の肝臓の脂肪蓄積を減少させることが報告されている。また、脂肪組織や肝臓において細胞内成分の分解機構であるオートファジーを介した脂肪滴の分解 (リポファジー) が、新規の脂肪分解機構として注目されている。最近我々は、atRA がマウスの脂肪組織においてリポファジーを促進させることを明らかにしたが、肝臓の脂肪蓄積に対する atRA のリポファジーへの影響は検討されていなかった。本研究では、脂肪肝に対する atRA によるリポファジーへの影響やその機序の解明を目的として、マウス肝がん由来 Hepa1c1c7 細胞や高脂肪食を摂取したマウスの肝臓 (脂肪肝) を用いて検討を行った。</p> <p>オートファジー活性を定量的に評価できる GFP-LC3-mCherry プローブを安定発現させた Hepa1c1c7 細胞を用いて解析した結果、脂肪酸処理によって脂肪滴を蓄積させた Hepa1c1c7 細胞 (fatty Hepa1c1c7 細胞) において atRA (100 nM) はオートファジー活性を亢進させることが分かった。次に、オートファジー必須遺伝子 <i>Atg5</i> に対する siRNA を用いて fatty Hepa1c1c7 細胞のオートファジーを抑制させると、atRA による肝細胞の脂肪滴の分解効果が減弱した。また、オートファジー調節因子の中でも唯一抑制因子として知られている Rubicon の発現量は、fatty Hepa1c1c7 細胞において mRNA レベルでの変化は認められなかったが、タンパク質レベルでは atRA 濃度依存的に減少した。そして、この atRA による Rubicon 発現への影響は、高脂肪食を摂取した C57BL/6 マウスに atRA (10 mg/体重) を 4 週間投与した後に採取した肝臓においても同様の結果であった。さらに、高齢マウスの肝臓で Rubicon 発現が増加することが報告されていることから、若齢 (8 週齢) と高齢 (86 週齢) のマウス間で atRA による Rubicon 発現への影響の違いを検討した。その結果、若齢マウスで観察された atRA による Rubicon 発現量の減少は、高齢マウスでは観察されなかった。次に、<i>Rubicon</i> 遺伝子に対する siRNA を用いて fatty Hepa1c1c7 細胞の Rubicon 発現を抑制させると、atRA による肝細胞の脂肪滴の分解効果が減弱した。最後に、atRA による Rubicon の発現制御機構を検討するために、プロテアソーム阻害剤 (MG-132)、リソソーム阻害剤 (Bafilomycin A1)、タンパク質合成抑制剤 (cycloheximide) を用いた。その結果、fatty Hepa1c1c7 細胞に対する atRA による Rubicon 発現の減少は、タンパク質合成の制御によって調節されていることが示唆された。</p> <p>以上より、肝細胞において atRA は Rubicon 発現の減少を介してリポファジーを誘導することが示された。また、高脂肪食を摂取したマウスの肝臓において atRA は Rubicon 発現の減少を引き起こすこと、そして atRA による肝臓の Rubicon 発現の減少効果は加齢によって消失する可能性が示された。</p>			