Loss of autophagy promotes murine acetaminophen hepatotoxicity

メタデータ	言語: English
	出版者:
	公開日: 2011-03-20
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 井草, 祐樹
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2001089

順天堂大学　博士 (医学)
氏名　井草 祐樹
論文題目　Loss of autophagy promotes murine acetaminophen hepatotoxicity
(アセトアミノフェン肝障害におけるオートファジーの役割の検討)

論文内容の要旨

【目的】アセトアミノフェン投与後の肝細胞死誘導には不明な点が多い。オートファジーは変性蛋白や障害された細胞内小器官を分解・リサイクルする蛋白分解機構であり，細胞内の恒常性維時において重要な役割を果たしている。今回，アセトアミノフェン投与後肝障害におけるオートファジーの関与を検証した。

【方法】コントロールマウス C57BL／6 Atg7 F／F と肝特異的 Atg7 欠損マウス (C57BL／6 Atg7 F／F:Mx1-Cre) にアセトアミノフェン 500mg／kg を腹腔内投与し血清と肝組織を採取した。肝障害を評価するために血清 ALT 値測定と肝組織 HE 染色を行った。肝細胞内オートファジー発現を評価するために電子顕微鏡による観察を行い，LC 3 発現をウエスタンブロットにて評価した。アポトーシスの評価のために肝組織 TUNEL 染色や caspase-3, 7, JNK 発現と細胞質分画中 cytochrome c 発現をウエスタンブロット法にて評価した。単離肝細胞にアセトアミノフェンを添加し，フローサイトメトリーにて細胞死を評価した。また carboxy-H ２DCFDA 添加にて ROS 産生を評価し，JC-1 試薬にてミトコンドリア膜電位変化を評価した。

【結果】コントロールマウスではアセトアミノフェン投与６時間後に肝細胞質内のオートファゴソームが増加したが，オートファジー欠損マウスではオートファジー誘導が抑制されていた。一方，オートファジー欠損マウスではアセトアミノフェン投与後の肝障害が増悪し，ミトコンドリア形態異常が観察された。アセトアミノフェン投与後の肝組織ではオートファジー欠損によりネクローシス以外にアポトーシス細胞も散見され, TUNEL 陽性細胞が増加した。オートファジー欠損によりアセトアミノフェン投与後のカスパーセ 3, 7 や JNK 活性化が強く誘導され，細胞質内 cytochrome c 発現が増加した。単離肝細胞の検討では，オートファジー欠損によりアセトアミノフェン投与後の ROS 産生やミトコンドリア膜の脱分極が強く誘導された。一方, N-acetylcysteine, JNK inhibitor, Cyclosporine A 添加によってミトコンドリア膜電位変化や細胞死が抑制された。

【結論】オートファジー欠損によりアセトアミノフェン投与後のミトコンドリア障害と肝細胞死が強く誘導された。アセトアミノフェン投与後に誘導されるオートファジーは細胞保護的に作用しているものと推測された。