

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 中川 勇人

本研究は様々な肝疾患の進展に寄与している酸化ストレスが MAPK 経路を活性化するメカニズムを明らかにするため、MAPKKK の一つである Apoptosis regulating-kinase 1 (ASK1) のノックアウトマウスを用いたアセトアミノフェン肝障害モデルによって解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ASK1^{-/-}マウスにおけるアセトアミノフェン投与 6 時間後、24 時間後の血清 ALT 値は、WT マウスに比べて有意に低く、組織学的にも中心静脈周囲壊死が軽度であり、アポトーシスも著明に抑制されていた。また JNK 阻害薬はほぼ完全に障害を抑制しており、JNK1^{-/-}、JNK2^{-/-}でも障害が軽減されていた。マイクロアレイを用いた検討では、JNK 依存性遺伝子でアセトアミノフェン肝障害との関連が報告されている *jun* と *fos* の誘導が、ASK1^{-/-}マウスにおいて有意に抑制されていた。これらより ASK1-JNK 経路のアセトアミノフェン肝障害への関与が示唆された。
2. ASK1 はアセトアミノフェン投与 3-6 時間後に活性化しており、同時に ASK1 と Thioredoxin の解離を認めた。また、ASK1^{-/-}マウスではアセトアミノフェン投与 6 時間後の MKK4 と JNK の活性化が減弱していた。さらに JNK 活性化の時間推移は、1.5 時間では WT マウスと ASK1^{-/-}マウスで同程度であるのに対し、3-6 時間では ASK1^{-/-}で有意に減弱していたことから、ASK1 は JNK の持続的活性化に関与すると考えられた。一方、ASK1^{-/-}マウスの肝臓では p38 の持続的活性化も減弱していたが、p38 ヘテロ欠損マウスおよび p38 阻害薬投与マウスを用いた検討では対象群と肝障害に差はなく、p38 の肝障害への関与は否定的であった。
3. 初代培養肝細胞においても、ASK1^{-/-}マウス由来肝細胞ではアセトアミノフェンによる MAPK 活性化が減弱しており、細胞障害も軽度であった。また、*in vivo* の結果と同様に、JNK 阻害薬はアセトアミノフェンによる細胞死を抑制したが、p38 阻害薬は有意な効果を示さなかった。これらの結果から ASK1-JNK 経路がアセトアミノフェンによる直接的肝細胞障害に関与していることが示唆された。
4. アセトアミノフェンによる炎症性サイトカインの誘導は、ASK1^{-/-}マウスにおいて有意に低下していた。しかし脾細胞を用いた *in vitro* の検討では、壊死肝細胞による MAPK 活性化およびサイトカイン分泌量いずれも WT と ASK1^{-/-}脾細胞で同程度であり、*in vivo* での炎症の違いは直接的細胞障害の違いに起因するものと考えられた。

以上、本研究では ASK1 ノックアウトマウスを用いたアセトアミノフェン肝障害モ

デルによる検討から、ASK1はThioredoxinの解離を介して活性化し、JNKの持続的活性化を通じて肝細胞障害に関与していることを明らかにした。本研究は様々な肝障害に関与すると考えられている酸化ストレスがMAPK経路を活性化させる一つのメカニズムを解明し、肝疾患の病態把握や今後の治療ターゲットの探索において重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。