OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Gab1 in livers with persistent hepatocyte apoptosis has an antiapoptotic effect and reduces chronic liver injury, fibrosis and tumorigenesis.
Author(s)	水谷, 直揮
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/85263
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	水谷　直揮
論文題名 Title	Gab1 in livers with persistent hepatocyte apoptosis has an antiapoptotic effect and reduces chronic liver injury, fibrosis and tumorigenesis. （Gab1は肝細胞アポトーシスの持続する肝臓において抗アポトーシス作用をもち、慢性肝障害・肝線維化・肝腫瘍産生を抑制する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

Grb2-associated binder 1（Gab1）は、さまざまなgrowth factorの受容体である受容体型チロシンキナーゼによる細胞内シグナル伝達に重要なアダプタータンパク質である。肝部分切除後やアセトアミノフェン過剰投与による急性肝障害時など急速な肝再生が必要な状況では、Gab1がリン酸化することにより肝細胞増殖を誘導することが知られている。一方、肝細胞のアポトーシスが持続する慢性肝障害患者の肝臓では、ゆるやかな肝臓再生が誘導されることが知られているが、そのような肝臓に対するGab1の影響はわかっていない。本研究では慢性肝障害におけるGab1の役割を調べた。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

マウス正常肝細胞株であるBNL.CL2細胞においてsiRNAによりGab1をノックダウンすると無刺激の状態では細胞生存率とカスパーゼ活性は変化しないが、Bcl-2/-xL/-w阻害剤であるABT-737を投与すると生細胞数の減少とcaspase3/7活性の亢進がGab1 ノックダウン群で有意に促進された。またこの時、アポトーシス細胞を示すAnnexin V陽性・PI陰性細胞の割合はGab1ノックダウン群で有意に上昇していた。一方で、ABT-737と共にpan-caspase阻害剤であるZ-VAD-FMKを投与するとGab1ノックダウン群における生細胞数の減少は起こらなかった。また、BNL.CL2細胞にABT-737を投与すると、caspaseによるGab1の断片化が誘発され、断片化された一部であるp35-Gab1が形成された。この時Gab1のリン酸化は断片化に関与していなかった。

p35-Gab1は、肝細胞のアポトーシスを持続させる肝細胞特異的Mcl-1ノックアウトのマウスの肝臓でも検出された。Mcl-1・Gab1ダブルノックアウトマウスではMcl-1ノックアウトマウスと比較して血清ALT値は上昇し肝障害が増悪していた。また血清caspase 3/7活性の上昇、TUNEL陽性細胞数・cleaved caspase3陽性細胞数が有意に上昇しており、肝細胞アポトーシスが増悪していた。この時Mcl-1・Gab1ダブルノックアウトマウスにおいて抗アポトーシス作用をもつBcl-xLの発現が抑制されていた。またGab1をノックダウンしたBNl.CL2細胞にABT-737を投与するとBcl-xLの発現が抑制され、p35-Gab1を過剰発現したBNl.CL2細胞にABT-737を投与するとBcl-xLの発現が増強していた。

またMcl-1ノックアウトマウスでは肝細胞のSTAT3シグナル伝達活性化を伴う肝細胞の増殖がみられ、*col1a1*・*col1a2*のmRNAレベルでの上昇やSirius Red染色による線維化面積の増大を認めるとともに、長期飼育では発癌率・腫瘍形成個数・最大腫瘍径の増加が認められた。

〔総　括(Conclusion)〕

Gab1は肝細胞においてアポトーシス刺激の存在下で断片化され、p35-Gab1が形成される。慢性肝障害では、Gab1は肝再生における役割よりも、アポトーシスを抑制し、慢性的な肝障害、肝線維化、肝腫瘍形成を抑制する役割が重要である。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　水谷　直揮

	（職）	氏　名
論文審査担当者		
主　査	大阪大学教授	竹原 徹郎
副　査	大阪大学教授	江口 英利
副　査	大阪大学教授	桑木 宏実

論文審査の結果の要旨

本研究では肝細胞のアポトーシスが持続する慢性肝障害の肝臓におけるアダプター蛋白Gab1の役割を検討した。
マウス正常肝細胞株BNL.CL2細胞においてsiRNAによりGab1をノックダウンした上でBcl-2/-xL/-w阻害剤であるABT-737を投与すると、コントロールと比較して有意にアポトーシスが増強していた。また、caspase刺激によりGab1は断片化し、その断片化した一部であるp35-Gab1が産生されていることが確認された。p35-Gab1を強制発現したBNL.CL2細胞にABT-737を投与するとBcl-xLの発現は亢進していた。
また肝細胞特異的Mcl-1・Gab1ダブルノックアウトマウスを作成したところ、Mcl-1ノックアウトマウスと比較して有意に肝障害が増悪し、肝細胞アポトーシスが亢進していた。またダブルノックアウトマウスでは肝細胞増殖・肝線維化・肝腫瘍形成が亢進していた。
慢性肝障害では、Gab1は肝再生における役割よりも、アポトーシスを抑制し、慢性的な肝障害、肝線維化、肝腫瘍形成を抑制する役割が重要であることを明らかにした論文であり、学位に値するものと認める。