

## PII-34

### 過酸化ジアシルグリセロールによる肝小葉中心部特異的 PKC-NF- $\kappa$ B シグナルの活性化

鳥海 健太郎<sup>1</sup>, 竹腰 進<sup>1</sup>, 堀越 洋輔<sup>1</sup>, 平安山 英世<sup>1,2</sup>,  
鈴木 貴之<sup>1,2</sup>, 土屋 翔太郎<sup>1</sup>, 加柴 美里<sup>2</sup>, 山本 順寛<sup>2</sup>, 長村 義之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東海大学基盤診療学系病理診断学, <sup>2</sup>東京工科大学応用生物学部

**【目的】** プロテインキナーゼ C (PKC) はジアシルグリセロール (DAG) によって活性化され、種々の細胞応答を担うことが知られている。我々は脂質である DAG の酸化物 (DAG-O(O)H) が未酸化の DAG よりも強力な PKC 活性化作用を有することや、DAG-O(O)H を神経細胞に添加した場合、情報伝達系の異常を介した細胞傷害が誘導されることを報告した。しかし、生体で実際に DAG-O(O)H が産生され、なおかつ PKC を強く活性化させていることを示す知見は未だ無い。そこで本研究では四塩化炭素 (CCl<sub>4</sub>) 投与により酸化ストレスが亢進したラット肝臓における DAG-O(O)H 量の変動と下流 PKC 経路の活性化を免疫組織化学的手法によって検討した。

**【方法】** ウイスター系ラットを用い CCl<sub>4</sub> を投与後経時的に肝臓を採取した。脂質過酸化の指標であるヒドロキシノネナル (HNE) の蓄積を免疫組織化学により検討し、肝臓中 DAG-O(O)H 量を HPLC により測定した。さらに PKC の細胞内局在と NF- $\kappa$ B のリン酸化を検討するために抗リン酸化抗体を用いた免疫組織化学を行い、さらに炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  の発現を解析した。

**【結果・考察】** CCl<sub>4</sub> 投与により肝小葉中心部特異的に脂質過酸化が亢進し、肝臓中 DAG-O(O)H 量が有意に増加した。また、PKC の細胞膜移行と、NF- $\kappa$ B のリン酸化が脂質過酸化と同様に小葉中心静脈周囲で観察され、さらに TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  発現が上昇した。以上のことから、CCl<sub>4</sub> 刺激によって肝小葉中心部位で進行する脂質過酸化の過程で生じると考えられる DAG-O(O)H は、PKC-NF- $\kappa$ B シグナルの起点として炎症性サイトカインの発現を上昇させ、肝細胞傷害を促す可能性が示唆された。

## PII-35

### 脂肪滴に存在する蛋白質分解関連分子

大崎 雄樹, 宇仁田 慧, 鈴木 倫毅, 富岡 優介, 藤本 豊士

名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学分野

脂肪滴 (LD) は中性脂質のコアとリン脂質一重膜から成る。脂肪滴に局在する分子のうち、ADRP など一部はユビキチン-プロテアソーム分解を受ける事が示唆されている。一方肝細胞では脂肪滴に蓄えられていた脂質成分が ER 内腔に供給され、ApoB と結合して VLDL 合成が行われる。肝癌由来細胞株 Huh7 では ApoB を含む ER の亜領域が LD に融合した構造 (ApoB-crescent) がプロテアソーム阻害、DHA 処理などにより増加する。プロテアソーム阻害時には同構造内の ApoB がユビキチン化され、プロテアソーム分解系の標的となる事が示唆された。

脂肪滴周囲で起こる ApoB 分解の分子機構を明らかにするため、Huh7 から生化学的に精製した脂肪滴画分を材料として、質量分析法による蛋白質の網羅的検索を行ったところ、複数のユビキチン化関連分子候補が同定された。これらのうちの一部の分子の発現を RNAi により抑制すると、細胞内 ApoB 量及び細胞外へ分泌される ApoB 量が変動した。また脂肪滴画分を可溶化し、免疫沈降法で解析すると一部の分子が ApoB と共沈した。現在個々のユビキチン化関連分子について RNAi を用いた発現抑制を行い、ApoB-crescent 形成、ApoB のユビキチン化、ApoB 分解、並びに他の脂肪滴蛋白質代謝に対する影響を検討中である。