

在下では JNK と結合することで活性を抑えるが、酸化ストレスによりその結合が解除されると JNK が活性化される⁵⁾。JNK の活性化は一般的にはアポトーシスを誘導するとされている⁶⁾。さらに ERK と JNK は細胞の生存に関しては相反する働きをするとされており、ERK の活性低下と JNK の活性増強が相まってアポトーシスが誘導される⁷⁾。

また、p 38 MAPK も一般的にはアポトーシスを誘導に働くとされている。たとえば、紫外線刺激では癌抑制遺伝子 p 53 の遺伝子産物(蛋白質)の存在下にアポトーシスを誘導する⁸⁾。しかしながら酸化ストレスの種類、細胞の種類によっては細胞の生存に働く場合がある。

酸化ストレスにより活性化されたストレス応答性 MAPK の標的分子としては、癌遺伝子産物 c-Jun 蛋白質や p 53 蛋白質が挙げられる。c-Jun 蛋白質は JNK の標的分子であり、細胞特異的、刺激特異的にアポトーシスを誘導する⁹⁾。また、p 53 蛋白質もリン酸化を受けると蛋白質が安定化しアポトーシスを引き起こ

す¹⁰⁾。

II. 酸化ストレスと生存シグナル

この項のポイント

- 酸化ストレスは種類によって生存シグナルの活性化に働く場合と、不活性化に働く場合とがある。

酸化ストレスの種類によって生存シグナル系に対する影響は異なっている。たとえば、紫外線や放射線による酸化ストレスは PI-3 kinase/Akt 系の活性を低下させ、アポトーシスを誘導する。一方、H₂O₂は EGF 受容体の活性化を介して ERK とともに Akt をも活性化し、細胞生存に働く¹¹⁾。その場合、活性化された Akt は BAD をはじめとした種々の蛋白質のリン酸化を惹起するが、Akt が前述の ASK 1 をリン酸化することでその活性を抑え、アポトーシスを抑制することが明らかとなった¹²⁾。

このように、生存シグナルとストレス応答性 MAPK との間に cross-talk が存在する。加え

用語解説

◆アポトーシス

アポトーシスは遺伝子にプログラムされた細胞死で、真核細胞に備わる基本属性である。DNA に重篤な障害が加わった場合や、恒常性を保つうえで細胞自体が不要になった場合などに、プログラムが on になり細胞は自ら消滅していく。アポトーシス誘導因子のうち、Fas リガンドなどの death factor は受容体を介して(extrinsic pathway)、また種々のストレスはストレス応答性 MAPK(mitogen-activated protein kinase)を活性化し、ミトコンドリア(Mt)からチトクローム C (Cyt. C)を放出することで(intrinsic pathway)、最終的にはアポトーシス実行分子である caspase 3, (6,7)を活性化する。その結果、DNA の断片化、細胞骨格や核構造蛋白質の分解が起こり、細胞はアポトーシスへと陥る。肝細胞では death factor からのシグナルは Mt. を経由して intrinsic

pathway で増強される。

このようなアポトーシスは厳格に制御されている。たとえば、Bcl-2 familyのうち、anti-apoptotic family(Bcl-2, Bcl-XL など)は Mt. からの Cyt. C の放出を阻害する。一方、pro-apoptotic familyである BAD は Bcl-2/Bcl-XL と複合体を形成してその機能を阻害するが、増殖因子や細胞間接着などからの生存シグナル系 Akt によりリン酸化を受けると Bcl-2/Bcl-XL より離脱する。一方、癌抑制遺伝子 p 53 は Bax などの pro-apoptotic family や Fas などの発現を増強しアポトーシスを誘導する。また IAP(inhibitor of apoptosis)family は caspase と結合してその活性を抑える。加えて生存シグナルは NF- κ B を介して Bcl-2/Bcl-XL や IAP family を誘導しアポトーシスの抑制に働く。

て Bcl-2 は還元物質である細胞内チオールとの協調作用によりアポトーシス抑制効果を発揮することが明らかになり、レドックスレベルがアポトーシスを制御することが示された¹³⁾。

III. 酸化ストレスと NF κ B シグナル

この項のポイント

- 酸化ストレスは NF κ B の活性化を介して、多くの場合、細胞の生存に関与する遺伝子を誘導する。

酸化ストレスはまず、I κ B のリン酸化を介して NF κ B を活性化する。I κ B は定常状態では NF κ B と結合し活性を抑制しているが、酸化ストレスにより活性化される IKK, NIK, PKR, Akt などの蛋白質リン酸化酵素によりリン酸化されると、ユビキチン化により分解され、その結果、NF κ B は活性化する。もう一つの機序としてはレドックスレベルによる修飾である。すなわち、レドックス感受性のシステイン残基がチオレドキシニンにより還元されると NF κ B は活性化し、逆に酸化状態になると活性は減弱する¹⁴⁾。

このように活性化された NF κ B の標的遺伝子は、Bcl-XL や IAP family である c-IAP (cellular inhibitor of apoptosis protein) など、多くは細胞の生存に関与する遺伝子であるが、p 53 など細胞死に結びつく遺伝子を誘導する場合もある。

IV. 酸化ストレスと p 53 シグナル

この項のポイント

- 酸化ストレスは p 53 遺伝子の発現を促し、細胞周期の停止やアポトーシスの誘導に働く。

酸化ストレスは p 53 蛋白質を活性化するが、その機序として DNA 障害を介すること、酸化ストレスにより活性化された JNK や p 38

MAPK が p 53 を活性化すること、活性化された NF κ B が p 53 を誘導することなどが考えられる。加えて酸化ストレスは、p 53 蛋白質のシステイン残基を修飾することで DNA 結合能を増強させる¹⁵⁾。このようなメカニズムで活性化された p 53 蛋白質は細胞周期を停止させるか、あるいはアポトーシスを誘導する。p 53 蛋白質の標的分子のうち、細胞周期の停止に関与するものとしては p 21/Waf-1, 14-3-3 などがある。とりわけ p 21/Waf-1 は、H₂O₂ による細胞周期の停止に重要な役割を果たしている。

一方、アポトーシスに関与するものとして Bax, ミトコンドリアに存在する p 53 AIP (p 53-regulated-apoptosis-inducing protein 1), あるいは Fas などが挙げられる。これらの分子は協調してアポトーシスを誘導する。さらにアポトーシス誘導のメカニズムの一つとして、酸化ストレスにより活性化された p 53 蛋白質が ROS の産生をさらに増強することが挙げられる¹⁶⁾。

このような positive-feedback の詳細は未だ明らかではないが、可能性として活性化された p 53 蛋白質が ROS の消去系である MnSOD の発現を低下させること、あるいは ROS の安定性を亢進させる PIG 3 遺伝子の発現を増強させることが考えられる。さらに p 53 蛋白質は細胞死抑制に働く Bcl-2 遺伝子発現を減少させ、また生存シグナルを担う PI-3 kinase の subunit の発現の増強を介した dominant-negative 効果をもたらすことで、アポトーシスを増強する。

V. 酸化ストレスと他のシグナル伝達経路

この項のポイント

- 酸化ストレスはその他のシグナル伝達分子にも影響し、多くの場合、細胞の生存に働く。

1. PLC

phospholipase C(PLC)は増殖因子受容体からのシグナル伝達に関与し、細胞内カルシウムの動員やPKCの活性化を介しさまざまな細胞応答を行う。とりわけアイソザイムであるPLC γ 1, 2は受容体型、非受容体型PTKによりリン酸化を受け活性化される。さらにPLC γ はPKC(protein kinase C)を介して細胞増殖、細胞死、ストレス応答を誘導する¹⁷⁾。たとえば、サブタイプの一つであるPKC δ はH₂O₂により活性化されるとミトコンドリアへ移動しアポトーシスを誘導するが、ほかのサブタイプはアポトーシスの抑制に働く。

2. JAK/STAT

JAK(Janus protein tyrosine kinase)/STAT(signal transducers and activators of transcription)系は細胞増殖、生存あるいは細胞死を担う情報伝達経路である。JAKによりリン酸化を受けたSTATは核へ移行し、さまざまな遺伝子の転写を修飾する。酸化ストレス、とりわけH₂O₂によりこの経路は活性化されるが、そのメカニズムはPTPの活性低下に基づくものと考えられる。JAK/STAT系の活性化による細胞応答として、たとえば、熱ショック蛋白質であるHsp 70の誘導があげられる¹⁸⁾。加えて酸化ストレスの防御系として働くHO-1(heme oxygenase gene)もSTAT 3により誘導されることが明らかになった。このようにJAK/STAT系は酸化ストレスにより

細胞を保護するように働くことが予想される。

3. 熱ショックたんぱく質

熱ショックたんぱく質(heat shock protein; Hsp)は六つのsubfamilyから構成されている。外的刺激により誘導され、種を越えて保存された蛋白質であり、普遍的なストレス応答を司っている。酸化ストレスはHSF 1(heat shock transcriptional factor 1)と呼ばれる転写因子を介してHspを誘導する。HspのうちでもHsp 70, small heat shock proteinはさまざまな酸化ストレス下において、細胞の生存の促進とアポトーシスの抑制に働く。たとえば、Hsp 70はJNKの活性を抑えることでアポトーシスを抑制する¹⁹⁾。一方、small heat shock proteinは、GSHを還元型に保つことで細胞内ROSの濃度を低下させ、アポトーシスを抑える²⁰⁾。

表 酸化ストレスにより活性化されるシグナル伝達分子と最終的な細胞応答

活性化されるシグナル伝達分子	最終的な細胞応答	
	細胞生存	細胞死(アポトーシス)
ERK	+++	++
JNK	++	+++
P 38 MAPK	+	+
PI-3 kinase/Akt	+++	-
NF κ B	++	++
p 53	+	+++
PLC γ	+++	+
JAK/STAT	+++	-
HSF 1	+++	-

- : 細胞応答への影響がほとんどない

+ : 幾分細胞応答に影響している

++ : かなり細胞応答に影響している

+++ : 有意に細胞応答に影響している

まとめ

近年、酸化ストレスによる細胞応答を担うシグナル伝達が明らかになってきた。酸化ストレスそのものがシグナル伝達を誘導する場合と、増殖因子などにより誘導されたシグナル伝達をレドックスレベルを介して修飾し、メディエーターとして働く場合とがある。いずれの場合であれ、酸化ストレスに対する多様性に富んだ細胞応答は、個々のシグナル伝達系が協調的、あるいは拮抗的に作用を及ぼしあった総和として表現される(表)。このような酸化ストレスに伴う細胞応答を担うシグナル伝達の制御は、炎症や細胞障害の改善、さらには発癌や老化の予防にも結びつくものとして、その研究の発展が期待される。

文献

- 1) Nakamura, H., Nakamura, K. and Yodoi, J. : Redox regulation of cellular activation. *Annu. Rev. Immunol.* 15 ; 351-369, 1997
- 2) Iyoda, K., Sasaki, Y., Horimoto, M., et al. : Involvement of the p38 mitogen-activated protein kinase cascade in human hepatocellular carcinoma. *Cancer* 97 ; 3017-3026, 2003
- 3) Ichijo, H., Nishida, E., Irie, K., et al. : Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways. *Science* 275 ; 90-94, 1997
- 4) Saitoh, M., Nishitoh, H., Fujii, M., et al. : Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase(ASK)1. *EMBO J.* 17 ; 2596-2606, 1998
- 5) Adler, V., Yin, Z., Fuchs, S.Y., et al. : Regulation of JNK signaling by GSTp. *EMBO J.* 18 ; 1321-1334, 1999
- 6) Chen, Y. R. and Tan, T. H. : The c-Jun N-terminal kinase pathway and apoptotic signaling. *Int. J. Oncol.* 16 ; 651-662, 2000
- 7) Xia, Z., Dickens, M., Raingeaud, J., et al. : Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinase on apoptosis. *Science* 270 ; 1326-1331, 1995
- 8) Bulavin, D. V., Saito, S., Hollander, M. C., et al. : Phosphorylation of human p53 by p38 kinase coordinates N-terminal phosphorylation and apoptosis in response to UV radiation. *EMBO J.* 18 ; 6845-6854, 1999
- 9) Bossy-Wetzell, E., Bakiri, L. and Yaniv, M. : Induction of apoptosis by the transcription factor c-Jun. *EMBO J.* 16 ; 1695-1709, 1997
- 10) Fuchs, S. Y., Adler, V., Pincus, M. R., et al. : MEKK1/JNK signaling stabilizes and activate p53. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95 ; 10541-10546, 1998
- 11) Wang, X., McCullough, K. D., Franke, T. F., et al. : Epidermal growth factor receptor-dependent Akt activation by oxidative stress enhances cell survival. *J. Biol. Chem.* 275 ; 14624-14631, 2000
- 12) Kim, A. H., Khursigara, G., Sun, X., et al. : Akt phosphorylates and negatively regulates apoptosis signal-regulating kinase 1. *Mol. Cell. Biol.* 21 ; 893-901, 2001
- 13) Mirkovic, N., Voehringer, D. W., Story, M. D., et al. : Resistance to radiation-induced apoptosis in Bcl-2-expressing cells is reversed by depleting cellular thiol. *Oncogene* 15 ; 1461-1470, 1997
- 14) Flohe, L., Brigelius-Flohe, B., Saliou, C., et al. : Redox regulation of NF- κ B activation. *Free Rad. Biol. Med.* 22 ; 1115-1126, 1997
- 15) Meplan, C., Richard, M. J. and Hainaut, P. : Redox signaling and transition metals in the control of the p53 pathway. *Biochem. Pharmacol.* 59 ; 25-33, 2000
- 16) Johnson, T. M., Yu, Zx., Ferrans, V. J., et al. : Reactive oxygen species are downstream mediators of p53-dependent apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93 ; 11848-11852, 1996
- 17) Gopalakrishna, R. and Jaken, S. : Protein kinase C signaling and oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.* 28 ; 1349-1361, 2000
- 18) Madamanchi, N. R., Li, S., Patterson, C., et al. : Reactive oxygen species regulate heat-shock protein 70 via the JAK/STAT pathway. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21 ; 321-

326, 2001

- 19) Jolly, C. and Morimoto, R. I. : Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. J. Natl. Cancer Inst. 92 ; 1564-1572, 2000
- 20) Arrigo, A. P. : Small stress proteins : chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death. J. Biol. Chem. 379 ; 19-26, 1998

Summary

Oxidative Stress and Signal Transduction

Yutaka Sasaki*

Reactive oxygen species(ROS), whether produced endogeneously as a consequence of normal cell function or derived from external sources, pose a constant threat to cells, because ROS induce severe damage to DNA, proteins and lipids. In this regard, cells contain a variety of antioxidant defense mechanisms to minimize

damage caused by ROS. However, ROS production often exceeds antioxidant capacity, resulting in a condition termed as oxidative stress. Oxidative stress elicits a wide spectrum of cellular responses ; typically, low levels of oxidative stress are mitogenic and promote cell growth, whereas intermediate levels result in growth arrest. Furthermore, severe oxidative stress induces cell death via apoptosis or necrosis. A large number of signaling pathways, which regulate cellular responses to oxidative stress, have been revealed. Regulating the signaling pathway may serve as new therapeutic interventions, aimed at treatment of diseases or conditions such as normal aging.

Key words : oxidative stress, signal transduction, apoptosis, redox level, reactive oxygen species(ROS)

*Department of Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, 1-1-1 Honjo, Kumamoto, Kumamoto 860-8556, Japan

224事例のヒヤリハットに学ぶ

—いかにして内視鏡のトラブルを防止するか

2004年11月刊

消化器内視鏡の

ワンポイントアドバイス

トラブル防止マニュアル

A5変形判 約300頁 送料340円


定価 (本体 3,600円+税)

監修: 鈴木 博昭

編集: 幕内 博康 / 熊井浩一郎 / 澤田 俊夫

峯 徹哉 / 藤盛 孝博

本書は消化器内視鏡に関連する医療事故を防止するために企画された。全国の内視鏡医から寄せられた224例の教訓的な事例を、トラブル防止対策の観点からポイントを絞って解説した。

 日本メディカルセンター

ホームページアドレス : <http://www.nmck.co.jp>

〒101-0051 東京都千代田区神田神保町1-64 ☎03(3291)3901(代) FAX03(3291)3904

発癌機序

要旨

本邦における原発性肝癌（以下、HCC）は、その約90%が基礎疾患にB型やC型肝炎ウイルスの持続感染を有しており、慢性炎症が発癌の誘因である。一方、B型肝炎ウイルスは宿主遺伝子へ組み込まれ発癌を惹起する場合がある。肝癌の発生や進展は、複数の癌関連遺伝子の発現異常が関与する多段階のプロセスであり、発現異常の機序として、炎症やウイルスタンパク質による genetic な変異, epigenetic な変異などが挙げられる。しかしながら、HCC に特異的な遺伝子異常ははまだ発見されておらず、診断能や治療成績の向上のために、肝発癌機構の詳細な解明が待望される。

はじめに

本邦における原発性肝癌（以下、HCC）の特徴は、その約90%が基礎疾患にB型肝炎ウイルス（HBV）、あるいはC型肝炎ウイルス（HCV）の持続感染を有していることである。初感染より慢性肝炎、肝硬変を経て肝発癌に至るが、長期間の慢性炎症が肝発癌の誘因となっていることは疫学的にも明らかである。さらに、慢性肝疾患に対する治療が発癌率を有意に抑制するというこれまでの報告は、慢性炎症と肝発癌との関連を臨床的な側面からも支持している。一方、たとえ炎症が沈静化していても、HBV そのものが宿主遺伝子へ組み込まれ肝発癌を惹起する場合がある。本稿では肝発癌のメカニズムを遺伝子異常を中心に、炎症やウイルス感染との関連を併せて解説する。

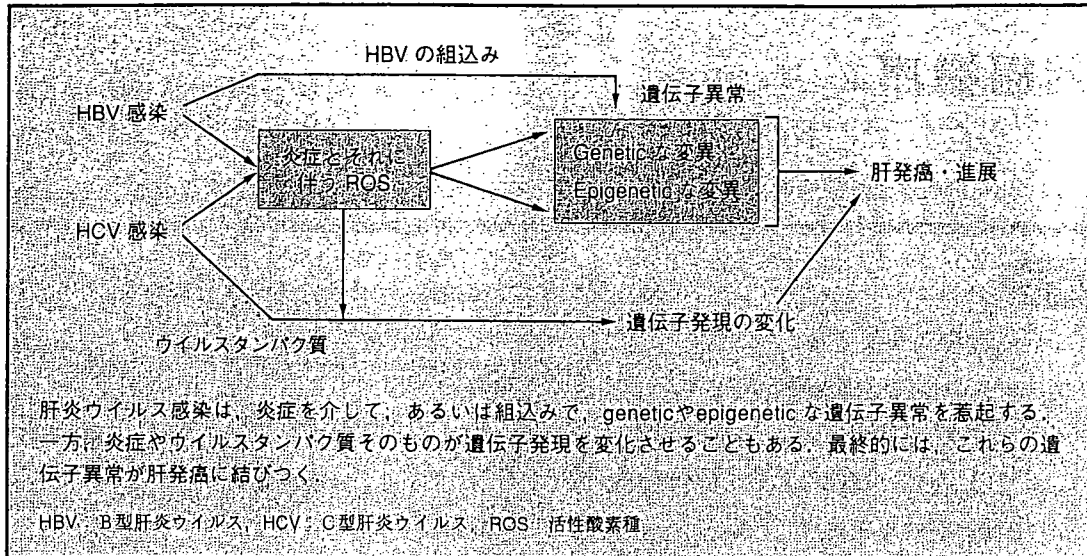
キーワード

肝癌
肝炎ウイルス
多段階発癌
遺伝子異常
癌関連遺伝子

ウイルス感染と遺伝子異常 (図1)

癌の発生や進展は、Vogelstein らが提唱するように、複数の癌関連遺伝子の活性化や不活性化が関与する多段階のプロセスである¹⁾。癌関連遺伝子の発現異常の原因としては、染色体 DNA の異常を伴う

図1 ウイルス感染と遺伝子異常

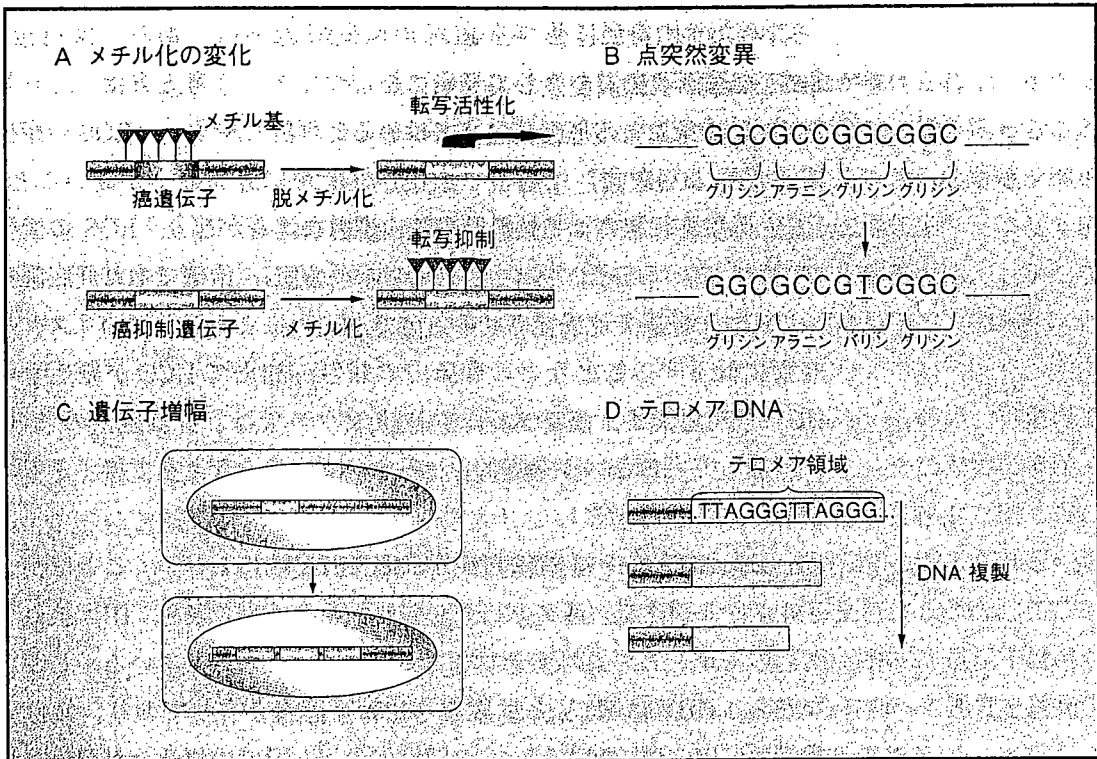


genetic な変異と、DNA の異常を伴わない epigenetic な変異などが考えられる。近年、ウイルス感染に基づく炎症により肝細胞内に発生する活性酸素種 (ROS) が、genetic あるいは epigenetic な遺伝子変異をもたらし、肝発癌に結びつくことが示唆されるようになった²⁾。

Genetic な変異の原因としては、例えば ROS により生じる酸化 DNA 障害産物である 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) が挙げられる。正常な細胞でも生理的に産生される ROS により、1 日細胞当たり約 200 個の 8-OHdG が発生するが、通常は修復機構により修復される。しかしながら、慢性炎症により 8-OHdG の発生が修復能を凌駕すると、癌遺伝子や癌抑制遺伝子に G⇒T という塩基の変異がもたらされる³⁾。また、ROS はミトコンドリア DNA (mtDNA) に変異を与え、その結果、ミトコンドリア機能異常による細胞死を誘導するとともに、断片化された mtDNA は染色体 DNA へ組み込まれ癌遺伝子の活性化へと結びつく⁴⁾。

一方、epigenetic な変異の 1 つとして、メチル化による遺伝子異常 (RNA 発現異常) が挙げられる (図 2 A)。哺乳動物の DNA ではシトシン (C) はメチル化を受けやすく、とりわけ CpG 部位 (C と G が連続した場所) の約 80% はメチル化されている。DNA のメチル化はその領域に存在する転写単位の発現を抑制するが、HCC において

図2 肝細胞癌 (HCC) の遺伝子異常



メチル化異常が明らかになっている。多くの悪性腫瘍では HCC も含め、全体的にメチル化が低下している（脱メチル化）とされている。脱メチル化は癌遺伝子の発現抑制を解除し癌化に結びつく。その機序として、ROS により産生された 8-OHdG がメチル化酵素の働きを阻害しメチル化を低下させることが挙げられる。実際に慢性ウイルス性肝疾患の肝細胞内では 8-OHdG の濃度が上昇しており、慢性炎症が脱メチル化により癌遺伝子の発現を増強し、肝発癌に結びつく可能性が示されている。

一方、細胞接着に重要な E-カドヘリンは高頻度にヘテロ接合性の消失 (LOH) が認められる染色体 16q24 に存在するが、HCC ではプロモーター領域に高度にメチル化増強が認められ⁹⁾、16q の LOH と相まって、カドヘリン遺伝子発現が低下し浸潤転移がもたらされる。一方、細胞周期関連遺伝子である *CDKN2A* (*p16^{INK4A}*) は細胞周期を G₁ 期に停止させる働きがあるが、早期の HCC においてプロモーター領域の高頻度のメチル化により p16 タンパク質の発現が低下し、細胞増

殖がもたらされる⁹⁾。

このように炎症に基づく ROS の産生が genetic, あるいは epigenetic な遺伝子変異を介して発癌に結びつくという考え方は、とりわけ HCV 感染による肝発癌にあてはめると理解しやすい。ROS の産生亢進が“より顕著”である C 型慢性肝疾患に肝発癌率が高いこと、HCV 感染肝細胞には中性脂肪や鉄の過剰な沈着が起り、ROS の産生が増強していること、インターフェロン (IFN) 治療であれ肝庇護療法であれ、肝炎を沈静化させることで HCV による肝発癌のリスクが有意に低下することなどの臨床での報告、加えて HCC が発生する HCV コア遺伝子トランスジェニックマウスでは、肝細胞内の ROS が増加しているという基礎的なデータ¹⁰⁾ は、この考えを支持するものである。

一方、HBV 感染も ROS 産生を介して肝発癌に結びつくことは、ウイルスタンパク質 (X タンパク, B 型肝炎ウイルス表面: HBs 抗原など) のトランスジェニックマウスで実験的に証明されている。しかしながら、HBV は HCV とは異なり逆転写酵素を有しており、慢性肝炎ではほぼ全例に宿主ゲノムへ部分欠失した形での組込みが認められることより、組込みを介して癌関連遺伝子に genetic な変異をもたらす可能性も高い。

遺伝子異常と肝発癌

Weinberg らは多段階発癌を、① 増殖シグナルの恒常的活性化、② 増殖抑制シグナルに対する不応性の獲得、③ アポトーシス抵抗性の獲得、④ 複製予備能の無限化 (テロメラーゼの活性化)、⑤ 腫瘍血管新生の維持、⑥ 組織浸潤と転移、の 6 段階に分類している¹¹⁾。これらのステップは肝発癌にもあてはまり、そのメカニズムは多くの場合、genetic あるいは epigenetic な遺伝子異常によって説明されるが、基礎疾患である慢性炎症、あるいはウイルスタンパク質そのものがシグナル伝達や転写因子を介して、それぞれのステップに関与していることも明らかになっている。

1. 増殖シグナルの恒常的活性化

癌原遺伝子 (proto-oncogene) や細胞周期関連遺伝子に変異が生じると、増殖シグナルの恒常的な活性化がもたらされる。とりわけ癌

原遺伝子は正常細胞では増殖や分化を担っているが、変異が加わると癌遺伝子 (oncogene) として癌化を誘導する。

このような変異には点突然変異と遺伝子増幅が挙げられる。そのうち、遺伝子の塩基配列の1つが正常とは異なる塩基に置き換わることを“点突然変異”と呼ぶ(図2B)。癌原遺伝子の多くは増殖シグナルの細胞内情報伝達分子であり、その中でも *ras* 遺伝子ファミリーに点突然変異が起ると活性化され、増殖シグナルが増強する。しかしながら、*ras* 遺伝子ファミリーの活性化変異の頻度はHCCでは数%と低い。

一方、遺伝子自体の構造には異常が認められないものの、特定の遺伝子を含む染色体領域が多数コピーされて存在し、そのために遺伝子発現が大幅に増大している場合を“遺伝子増幅”と呼ぶ(図2C)。遺伝子増幅は主に癌原遺伝子や細胞周期関連遺伝子に認められる。その中でも癌原遺伝子 *c-myc* 遺伝子の存在する染色体8q24はHCCの40%で2~5倍の増強があり、*c-myc* 遺伝子自体にも遺伝子増幅が報告されている⁹⁾。また、細胞周期のG₁期からS期への進行を制御するサイクリンD₁の遺伝子増幅とタンパク質発現増強が、進行したHCCにおいて約10%の頻度で観察される⁹⁾。さらに、 β -カテニンはWntシグナル伝達系の構成要素であり *c-myc* やサイクリンD₁などの転写を誘導する癌原遺伝子であるが、早期のHCCにおいて β -カテニン遺伝子の変異が報告されている¹⁰⁾。

他方、肝炎ウイルスの機能解析から、HBVのウイルスタンパクであるXタンパクは *c-myc* 遺伝子の転写を増強すること¹¹⁾、HCVのコアタンパクは *c-myc* プロモーターを活性化することが明らかになっており、ウイルスタンパクは遺伝子変異を介さずとも増殖シグナルの活性化に関与することが示されている。

2. 増殖抑制シグナルに対する不応性の獲得

増殖シグナルを抑える働きをする癌抑制遺伝子では、LOHと残存アレルの変異が合わさって初めて機能異常が生じる。通常、正常組織の遺伝子座において、父方由来と母方由来の対立遺伝子は同じでないが、この一方が欠失してホモ接合体に変化している場合をLOHと呼ぶ。LOHの頻度は染色体部位にかかわらず、概して進行癌において頻度が高くなる。また、早期HCCでは1p, 4q, 6q, 8pなどでLOH

の頻度が高い。一方、進行 HCC ではそれらに加え、13q, 16q, 17p などに LOH の報告が多い。HCC の進展過程で 1 つの癌組織中に LOH を認める染色体部位が次々に増加するため、複数の遺伝子（特に癌抑制遺伝子）に遺伝子変異が蓄積して腫瘍発生・進展に関与する。

実際には、1p の LOH は 2 cm 以下の早期 HCC でテロメア側に高頻度に認められる。この部位に癌抑制遺伝子 p53 と相同性を有する p73 遺伝子が存在するが、HCC では p73 遺伝子変異はまれであり、HCC との関連は薄い。6q25-27 にはマンノース 6-リン酸/インスリン様増殖因子-II 受容体（以下 M6P/IGF2R）の遺伝子が存在する。M6P/IGF2R はトランスフォーミング増殖因子（TGF） β を不活性型から活性型へ変換する働きを有しており、細胞の増殖抑制に働く。M6P/IGF2R の変異は HCC の早期に認められ、機能欠損が増殖抑制シグナルの減弱をもたらす発癌へ関与すると考えられている¹²⁾。

13q には癌抑制遺伝子 Rb 遺伝子が存在する。進行 HCC において LOH とともに残存アレルに高率に点突然変異が認められ、Rb 遺伝子の機能欠損が明らかになっている¹³⁾。17p には癌抑制遺伝子 p53 が存在するが、HCC において LOH が報告されている。p53 は DNA 傷害時に細胞周期を停止させ DNA 修復を促進する。また DNA 修復が不可能な場合にはアポトーシスを誘導することで遺伝子の安定性を保っている。p53 遺伝子の変異は前癌状態や早期 HCC では報告がなく、むしろ分化度の低下、腫瘍径の増大に伴い変異の頻度が高くなることから¹⁴⁾、癌の発生ではなく進展に関与するものと考えられている。

そのほか、癌抑制遺伝子の変異は PTEN, CDKN2A ($p16^{INK4A}$), RUNX3 などにも報告されている。

3. アポトーシス抵抗性の獲得

通常、遺伝子異常を来した肝細胞はアポトーシスにより排除されるが、何らかの機序でアポトーシス抵抗性を獲得すると、クローナルに増殖して癌組織へと進展する。また、アポトーシス抵抗性は免疫機構からの回避の一翼も担っている。

1) アポトーシス促進系の減弱化

アポトーシスの実行には Fas リガンド (Fas-L) や TNF- α などの death factor が必要である。例えば、細胞障害性 T 細胞 (CTL) などに発現する Fas-L が、細胞表面上の Fas に結合すると caspase 3

と呼ばれるアポトーシスの最終実行分子が活性化され、細胞はアポトーシスに陥る。p53はFasや、アポトーシス促進因子であるBaxの転写を促しアポトーシスを誘導するが、HCCではp53が存在する17pに高頻度にLOHを認め、また残存アレルでFasやBaxの誘導に必要なドメインに点突然変異が集中するため¹⁴⁾、アポトーシス誘導シグナルが減弱している。また、逆にFasの負の制御因子であるFas-associated phosphatases-1 (FAP1)や、caspase 8の活性化を抑制するFLIP (FLICE-inhibitory protein)の発現が亢進していることから¹⁵⁾、HCCではアポトーシス誘導シグナルは抑制されていることがうかがえる。加えて、HCCではアポトーシス抑制因子であるBcl-2、Bcl-XLの発現増強と、促進因子であるBadの発現低下とが相まって、アポトーシス誘導シグナルが減弱している¹⁶⁾。さらに、ミトコンドリアに存在しアポトーシス感受性を決定するHint2の発現低下がHCCで報告されている¹⁷⁾。

他方、TGF β の活性化に必要なIGF-II/m6p受容体¹²⁾やTGF β 受容体の発現が低下しているため、TGF β によるアポトーシスも減弱している。

また、肝炎ウイルスの機能解析より、HBVのX遺伝子産物(Xタンパク)はp53タンパク質と結合して不活性化することやcaspase 3の活性を抑えることでアポトーシスの抑制に働くとされている¹⁸⁾。

2) アポトーシス抑制系(生存シグナル)の活性化

HCCでは多くの場合、Aktと呼ばれる生存シグナルの伝達分子が有意に活性化されおり、その結果、caspase 3活性の低下がもたらされている。また、増殖シグナルの伝達分子であるmitogen activated protein kinase (MAPK)の活性化¹⁹⁾も、基質であるRSK90を介してcaspase 3活性を低下させるため、アポトーシス抑制に働く。肝炎ウイルスとの関連では、HBVのXタンパクは生存シグナルを活性化しアポトーシスを抑えるとされている。

3) 肝癌細胞によるFas counterattack

Fas-LはCTLなどのリンパ球系細胞に発現し、Fas発現細胞に結合してその細胞をアポトーシスへと導くが、最近、非リンパ球系細胞がFas-Lを発現すると、Fasも発現するCTLをアポトーシスへ導くこと(Fas counterattack)が報告された²⁰⁾。アポトーシス抵抗性を

有する癌細胞が *Fas-L* を発現すると、近傍の癌細胞をアポトーシスに導くことなく、CTL のみをアポトーシスに陥らせる可能性がある。実際に HCC においても *Fas-L* が発現しており、その周辺の CTL がアポトーシスに陥った像が観察される。

4. テロメラーゼの活性化

真核生物の染色体末端（テロメア）にはテロメア DNA が位置しており（図 2 D），その長さは細胞分裂に伴い短くなる。一方，生殖細胞，癌細胞ではテロメア DNA を延長する酵素であるテロメラーゼの働きにより，テロメア DNA の長さが保たれている。HCC においても約 80% の頻度でテロメラーゼ活性が確認され，中分化，低分化なほど陽性率は高い傾向にある。近年，HBVDNA がテロメア合成に関与するヒトテロメラーゼ逆転写酵素（*hTERT*）遺伝子の promoter 領域に組み込まれることが報告され²⁰，HBV による肝発癌のメカニズムの一端が明らかになった。

5. 腫瘍血管新生の維持

HCC はもともと血管に富んだ癌種であるがゆえに，血管内皮増殖因子（VEGF）や塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）などの血管新生因子を必要とする。実際に HCC 患者血清や癌組織，あるいはその周辺の肝組織に VEGF 濃度の上昇を認め²¹，術前の血清 bFGF 濃度が高値であるほど切除後の予後が不良であり，進行 HCC 患者では bFGF 濃度が高値であることが報告されているが，詳細な機序は不明である。一方，VEGF や bFGF の内因性阻害因子であるトロンボスポンジン 1（TSP-1）は HCC で低下しており，その原因として *p53* 遺伝子変異が TSP-1 の発現をさせることが考えられている。

6. 組織浸潤と転移

第 16 染色体の LOH と HCC の腫瘍径，分化度，転移との間に関連が認められること，また進行 HCC に LOH が高頻度に観察されることから，第 16 染色体に HCC の進展転移に関与する遺伝子の存在が示唆されている。16q には前述の E-カドヘリンの遺伝子が存在しており，メチル化による E-カドヘリンの機能低下は LOH と相まって，HCC の浸潤転移に関与している⁹。

おわりに

HCCも他の癌種と同様に多段階の発癌機構が想定されているが、HCCに特異的な遺伝子異常は未だ見いだされていない。肝発癌にウイルスの持続感染による慢性炎症が関与していることは疫学的にも明らかであるが、この慢性炎症から肝発癌に至る機構を現在の知見のみで説明することは不可能である。HCCの早期発見、高い再発率の抑制、分子標的治療など、HCC撲滅に向けた臨床応用につなげるためにも、遺伝子異常を中心とした肝発癌機構の詳細な解明が待望される。

佐々木 裕



- 1) Hanahan D, et al: The Hallmarks of Cancer. *Cell* 100: 57-70, 2000.
- 2) Sasaki Y, et al: Does oxidative stress participate in the development of hepatocellular carcinoma? *J Gastroenterol* 41: 1135-1148, 2006.
- 3) Hussain SP, et al: Molecular epidemiology of human cancer: contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. *Cancer Res* 58: 4023-4037, 1998.
- 4) Shay JW, et al: New evidence for the insertion of mitochondrial DNA into the human genome: significance for cancer and aging. *Mutat Res* 275: 227-235, 1992.
- 5) Kanai Y, et al: The E-cadherin gene is silenced by CpG methylation in human hepatocellular carcinomas. *Int J Cancer* 71: 355-359, 1997.
- 6) Yang B, et al: Aberrant Promoter Methylation Profiles of Tumor Suppressor Genes in Hepatocellular Carcinoma. *Am J Pathol* 163: 1101-1107, 2003.
- 7) Moriya K, et al: The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med* 4: 1065-1067, 1998.
- 8) Abou-Elklla A, et al: C-myc amplification in hepatocellular carcinoma predicts unfavorable prognosis. *Mod Pathol* 9: 95-98, 1996.
- 9) Nishida N, et al: Amplification and overexpression of the cyclin D1 gene in aggressive human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 54: 3107-3110, 1994.
- 10) de La Coste A, et al: Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 8847-8851, 1998.
- 11) Spandau DF, et al: Trans-activation of viral enhancers by the hepatitis B virus X protein. *J Virol* 62: 427-434, 1988.
- 12) De Souza A T, et al: Frequent loss of heterozygosity on 6q at the mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor locus in human hepatocellular tumors. *Oncogene* 10: 1725-1729, 1995.
- 13) Murakami Y, et al: Aberrations of the tu-

C型肝炎

アルコール過剰摂取はC型慢性肝疾患における肝発癌率を高めるか？

佐々木 裕

アルコール過剰摂取はC型慢性肝疾患における肝発癌率を高めるか？

ウイルス感染のない飲酒者では、10年以上にわたり1日当たりのエタノール摂取量が80g（日本酒換算3合）を越えると、肝発癌の危険率が上昇するとされている。実際にTaggerらは肝癌患者と非肝疾患患者とを対比したcase-control studyにおいて、肝癌有病危険率は1日当たりの摂取量0～40gの群に比べて、40～80g群ではオッズ比で1.5、80g以上では7.3にも上昇することを明らかにした¹⁾。しかしながら、アルコールの肝発癌への影響を議論するうえでの問題点としては、a) アルコール摂取量を反映する生物学的な指標がないために、対象者からの聞き取りに頼らざるを得

ず、そのため、データの集計そのものの正確さ、再現性に問題があること、b) アルコール摂取の表現法については、飲酒をする、しない、あるいは週に何回という報告から、エタノール量に換算した報告まで多岐にわたり、報告により表現がまちまちであることがあげられる。したがって、聞き取りによるアルコール摂取の評価という点の是非はさておき、飲酒量をエタノール量に換算した成績を中心に、C型肝炎ウイルス（HCV）陽性慢性肝疾患における肝発癌へのアルコールの影響について解説する。

アルコール摂取がC型慢性肝疾患における肝発癌に及ぼす影響に関する疫学的研究（表1）

ヨーロッパやアジアでのcross-sectional studyやcase-control studyにより、HCV陽性慢性肝疾患からの肝発癌率を多量飲酒が上昇させることが明らかである。

例えば、イタリアの21病院が参加した多施設共同研究では1,829名の肝硬変患者の中で、HCV陽性、かつ常習飲酒者（男性では1日80g以上、女性では1日60g以上の飲酒を10年以上継続しているもの）が21.2%を占め、さらにそのうち16%に肝癌の合併を認めている。一方、HCV陽性のみが成因である場合は肝硬変の47%を占めるも、そのうち肝癌合併は10%にとどまっている²⁾。

一方、464名の肝癌の入院患者と、824名の肝癌を有さない入院患者を対象としたイタリアのcase-control studyでは、1日60g以上の飲酒を10年以上続けたHCV陽性患者では、飲酒歴のな

いHCV陽性患者に比べ肝癌有病危険率のオッズ比が約2倍になることを報告している³⁾。またアメリカのcase-control study（115名の肝癌患者vs 230名の非肝癌患者）でも、肝癌有病危険率のオッズ比は、HCV陽性あるいはHBV（B型肝炎ウイルス）陽性群の19.1に比し、エタノール摂取量として1日80g以上が加わると53.9へと上昇し、synergy index (S) が約2.7にもなることが明らかになっている⁴⁾。さらにアジアのcase-control studyでも、1日80g以上の飲酒を10年以上続ける常習飲酒者（日本）、週3～4回を15年以上続ける常習飲酒者（台湾）で、かつHCV陽性患者の肝癌有病危険率のオッズ比がともに約2倍以上になることが報告されている^{5,6)}。

さらに日本では2つのlongitudinal study（縦断的研究）において、HCV感染とアルコールの肝

●C型慢性肝疾患における肝発癌へのアルコールの影響 (表1)

研究名	研究の種類	対象者数	アルコール摂取量	統計学的有意性	HCV陽性者における肝発癌率
De Barro (1994)	cross-sectional (他施設共同)	肝硬変: 1,829名 肝癌: 217名	エタノール 男性: 80g/日 女性: 60g/日 10年以上	<0.005	62/387 (16.0%) vs 90/873 (10.3%) で、多量飲酒者かつHCV陽性群がHCV陽性単独群に対して、肝硬変での肝癌の合併率が有意に高い。
Donato (2002)	case-control	肝癌合併: 450名 肝癌非合併コントロール: 823名	エタノール 60g/日を10年以上	オッズ比で約2.0倍	肝癌有病危険率では、HCV陽性の多量飲酒者(オッズ比1.09; 95%CI 50.9~233.0)は、60g/日未満の陽性者(オッズ比55.0; 95%CI 29.9~101.0)に比し、オッズ比で約2倍の差がある。(*60g/日未満のHCV陰性者を1とした場合)
Hassan (2002)	case-control	肝癌合併: 115名 肝癌非合併コントロール: 230名	エタノール 80g/日	Synergy index 2.7 (95%CI 1.1~5.2)	肝癌有病危険率では、HBVまたはHCV陽性の多量飲酒者(オッズ比53.9; 95%CI 7.0~416.7)は、80g/日未満の陽性者(オッズ比19.1; 95%CI 4.1~89.1)に比し、オッズ比で2.8倍以上の差がある。(*80g/日未満でのウイルス検出を1とした場合)
Tanaka (1991)	case-control	肝癌: 91名 コントロール: 410名	エタノール 80g/日 10年以上	相対危険率 2.1 (95%CI 1.0~4.4)	肝癌有病危険率はHCV陽性の多量飲酒者で、非飲酒者に比べ約2倍上昇する。
Yip (1991)	case-control	肝癌: 127名 コントロール: 127名	エタノール 週3回以上 15年以上	∞	HCV陽性で常習飲酒者は(オッズ比∞; 95%CI 1.7~∞)、非飲酒者(オッズ比6.0; 95%CI 1.1~60.6)に比べ、肝癌有病危険率が極めて高い。(*非飲酒者HCV陰性者を1とした場合)
Okada (1993)	longitudinal study	HCV陽性肝硬変 364名	エタノール量 積算500kg以上	p=0.0042	平均観察期間5.8年で、肝発癌の危険因子として、多量飲酒、年齢、AFPをあげている。
Alzawa (2000)	longitudinal study	HCV陽性慢性肝疾患 153名	明確な定義の記載なし	p=0.010 (95%CI 1.31~7.09)	平均観察期間8.2年で、肝発癌の危険因子として、常習飲酒、年齢(50歳以上)、線維化のステージをあげている。

発癌への影響が検討されている。池田らは252名のHCV陽性肝硬変患者を平均5.8年観察した結果、多変量解析からα-feto蛋白質、年齢、常習飲酒の3つの因子が肝発癌の独立した危険因子であると⁷⁾している。また相沢らは153名のHCV陽性肝疾患患者を平均8.2年観察し、年齢が50歳以上、線維化のステージ、常習飲酒がそれぞれ独立した肝発癌の危険因子であることを明らかにした⁸⁾。

加えて飲酒の影響で、“より若い”時期に肝癌を⁹⁾発症する⁹⁾ことが言われており、島内らは648名のHCV陽性肝癌患者のうち、年齢が50歳以下とい¹⁰⁾う若年者18名について多変量解析を行い、¹¹⁾飲酒とB型肝炎ウイルス重感染が独立した危

険因子であるとした⁹⁾。また岡田らは、HCV陽性で1日85g以上5年間以上の飲酒者では、肝切除後の無再発期間と生存期間が短くなることを報告した¹⁰⁾。さらに久保らは、HCV陽性で1日85g以上の飲酒者では、非飲酒者に比べて分化型の肝癌の頻度が有意に少なく、肝切除後の無再発期間も有意に短いことを明らかにした¹¹⁾。

このようにcross-sectional study, case-control studyやlongitudinal studyから、HCV陽性肝疾患に飲酒が加わると相乗的に肝発癌が増強するのみならず、肝発癌の年齢が若年化すること、さらに肝切除後の再発までの期間を短縮することも明らかになっている。

アルコールは何故HCV感染者の肝発癌を増強するのか？ 禁酒すれば肝発癌は抑制されるか？

HCV感染による肝発癌の分子基盤は炎症に基づく発癌である¹²⁾。とりわけ炎症に伴い肝臓内で産生される活性酸素種 (ROS) は、多段階発癌のさまざまなステップに関与している。一般的に生物は酸素をH₂Oに変換する過程で多量のATPと内因性のROSを産生する。一方、外因性刺激である抗癌剤、炎症性サイトカインなども肝細胞内にROSを産生する。このようなROSに対する生体内の消去系を産生系が凌駕した時、ROSは酸化ストレスとなり、DNA障害、脂質過酸化などを通して肝発癌に関与する。実際に、HCV陽性肝癌組織では、非癌部に比し酸化的DNA障害の指標である8-OHdGの陽性率が有意に高いこと¹³⁾、さらにHCV感染肝細胞にみられる過剰な鉄沈着は、Fenton反応を介したROS産生の増強を介して細胞障害を増悪するとともに、瀉血療法により過剰鉄を除去すると肝発癌の予防効果をもたらされることから¹⁴⁾、過剰なROSが肝発癌に重要な役割をしていることが窺える。

このようなHCV感染による肝発癌をアルコールが増強するメカニズムとして、ROS産生の“さらなる増強”があげられる。例えば、飲酒による肝細胞での鉄の過剰沈着はROSの産生増強に関与する¹⁵⁾。またアルコールはクッパー細胞での鉄沈着を増強させ、炎症性サイトカインであるTNF α の分泌の亢進と、それに伴う肝細胞でのROSの産生

増強を促す¹⁶⁾。一方、アルコールは薬物代謝酵素であるcytochrome P450 2E1 (CYP2E1) を誘導してROS産生の増強をもたらす¹⁷⁾。遺伝子多型によってもCYP2E1の発現が亢進するが、肝癌患者ではこのような遺伝子多型が高頻度に認められる¹⁸⁾。飲酒によりCYP2E1の誘導がかかる場合でも同様に肝発癌の増強がもたらされることが予想されるが、明らかなエビデンスはない。

さらにアルコールの中間代謝産物であるアセトアルデヒドの関与があげられる。これを代謝するアセトアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) は、日本人の約50%弱で全部あるいは一部が欠損しており、アセトアルデヒドが血中で高値になる。肝癌についてはHCV陽性の飲酒家においてALDH欠損群では非欠損群と比べて、有病危険率はオッズ比5.4 (信頼区間2.1~14) と上昇する¹⁹⁾。その他、アルコールによる免疫機能の低下、DNAのメチル化も発癌に関与するとされている。

一方、Donatoらは、大酒家において禁酒による肝発癌のリスクの低下について解析した。過去5年以内に禁酒を行った群では、現在も飲酒を続けている群に比べて肝発癌のリスクはむしろオッズ比4~5倍と高いこと、10年以上禁酒を継続してはじめて、非飲酒者と同程度にまでオッズ比が回復することを報告している²⁾。

現時点における肝発癌に対するアルコールの影響についての考え方

- ウイルス感染がなくとも、1日当たりエタノール摂取量80g以上 (日本酒換算で3合) を10年以上継続すると、肝発癌の危険率が上昇する。
- 前癌状態ともいふべきHCV陽性慢性肝疾患にアルコール摂取が加わると、肝発癌の危険性がさらに増強する。加えて肝癌発生年齢が若年化すること、さらに肝切除後の再発までの期間を短縮することが明らかになっている。
- エタノール量として1日当たり60~80g以上が、HCV陽性慢性肝疾患における肝発癌の上昇をもたらすとされているが、遺伝子多型によりアルコール代謝動態に個人差が大きいことから、一律にアルコールの許容量を患者に呈示するべきではない。
- たとえ禁酒をしていても、肝発癌のリスクが非飲酒者のそれに戻るには数年の期間を要することから、以前に多量飲酒をしていたHCV陽性慢性肝疾患患者に対しても、厳重な経過観察が必要である。

肝障害とその機序

酸化ストレスと肝疾患

Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of liver diseases

Key point

- 外因性刺激や内因性刺激により肝細胞での活性酸素種(ROS)の産生が亢進し、消費系を凌駕したときに酸化ストレスとなる。
- 慢性ウイルス性肝疾患では、炎症細胞の分泌するサイトカイン、鉄や脂肪の沈着、さらには肝炎ウイルス蛋白により肝細胞での ROS 産生が増強する。
- 脂肪肝では脂肪のβ酸化により、またアルコール性多量摂取ではアルコール代謝によりミトコンドリア呼吸鎖に過剰な電子が供給され ROS 産生が亢進する。
- 酸化ストレスは直接的に、あるいはサイトカインの発現を介して、さらには産生された脂質過酸化物を協調して炎症、細胞死、線維化や癌化を誘導する。
- 酸化ストレスが種々の慢性肝疾患の病態形成に中心的な役割を果たすことから、抗酸化ストレス療法が共通した治療手段となり得ることが示唆される。

肝臓が生体内の唯一の化学工場と称される所以は、肝臓においてさまざまな代謝活動が活発に行われているためである。このような代謝活動に必要なエネルギーには、体内に取り込まれた酸素が肝細胞のミトコンドリア(Mt)呼吸鎖で酸化的リン酸化に利用される際に産生される ATP が使われる。この過程において、数%の酸素はつねに不完全に還元されて活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)に変化する。正常な肝細胞における ROS の産生源としては、Mt の呼吸鎖に加え、マイクロソームや Mt に存在する cytochrome p450 2E1(CYP2E1)もあげられるが、Mt は肝細胞に多く存在するために、必然的に ROS 産生における役割は大きい。ROS に対して肝細胞には消費系である抗酸化機構が備わっており、ROS を消去している。外因性刺激あるいは内因性刺激により肝細胞での ROS の産生が亢進し、消費系を凌駕したときに酸化ストレスとなり、さまざまな細胞応答が惹起される(図 1)。肝臓が代謝の場であるため、薬剤やアルコールは外因性刺

激として、肝細胞内への脂肪や鉄の沈着は内因性刺激として ROS 産生の増強に結びつく。加えてウイルス感染に伴う炎症性サイトカインは、外因性刺激として働く。

肝疾患における ROS 産生

1. 慢性ウイルス性肝疾患

ROS の産生は増強しており、その産生源も肝細胞にとどまらず、炎症細胞、さらには Kupffer 細胞などの実質細胞も含まれる。肝細胞では、炎症細胞が分泌する TNF- α や IL-1 β により ROS の産生が増強する。また、好中球や Kupffer 細胞では、NADPH 酸化酵素やサンチン酸化酵素により ROS が産生される。さらに肝炎ウイルス自体が ROS 産生にも関与する。たとえば、B 型肝炎ウイルス X 蛋白は、Mt に存在する VDCC (voltage-dependent anion channel) に作用することで Mt の膜電位を低下させ、ROS の産生を増加させる¹⁾。一方、C 型肝炎ウイルス NS3 蛋白は好中球 NADPH 酸化酵素による ROS の産生を増強し²⁾、コア蛋白は Mt 機能障害を介して ROS 産生を亢進する³⁾。一方、慢性 C 型肝炎ではしばしば肝細胞に鉄の過剰沈着が観察されるが、Fenton 反応を介して ROS のなかでも障害性の強い $\cdot\text{OH}$ が産生される(「サイドメモ 1」参照)。また、慢性 C 型肝炎では肝細胞の脂肪化やインスリン抵抗性を合併することも多く、脂肪肝と同様な機序で ROS の産生が増強する。

2. 生活習慣病としての肝疾患^{4,5)}

脂肪肝では、肝細胞に蓄積した遊離脂肪酸(FFA)が代謝されるためにβ酸化が亢進している。その結果、形成された NADH, FADH₂ が多くの電子を Mt 呼吸鎖に運び込む。また、脂肪組織や FFA の蓄積した肝細胞より放出される TNF- α の影響で、Mt 呼吸鎖、とりわけ複合体 III から IV (cytochrome c oxidase) への電子の伝達が抑制される。Mt 呼吸鎖では通常、酸素分子を 4 電子還元して水をつくる反応(電子伝達系)が行われているが、電子の大量流入と伝達障害のために、一部の電子が漏れ出て 1 電子還元を起こし、過剰に ROS (この場合、O₂⁻) が産生される。さらに、インスリン抵抗性や ketogenesis の亢進により CYP2E1 の活性が増強し、ROS の産生が亢進する。加えて Kupffer 細胞のエンドトキシンに対する感受性の亢進により、NAD(P)H 酸化酵素が活性化され ROS 産生が増強する。このような ROS 産生が非アルコール性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis: NASH)の原因となっている。一方、アルコール多量摂取では、肝細胞内でアルコール脱水素酵素やアセトアルデヒド脱水素酵素の働きで NADH/NAD⁺ 比が上昇し、Mt 呼吸鎖に過剰に

佐々木 裕/熊本大学大学院医学薬学研究所消化器内科学
Yutaka SASAKI

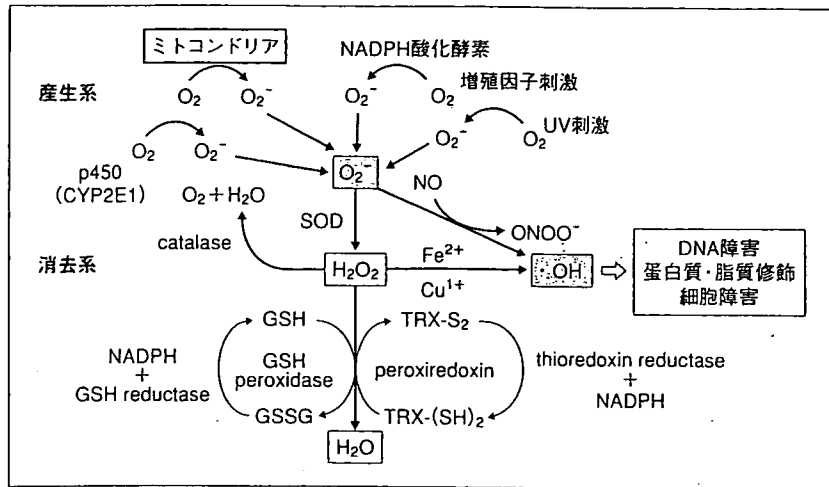


図1 活性酸素種(ROS)の産生系と消去系
SOD: superoxide dismutase, GSH: glutathione, TRX: thioredoxin.

電子が送り込まれ ROS が産生される⁶⁾。また、アルコールは腸管からの門脈へのエンドトキシンの透過性を亢進するとともに、Kupffer 細胞のエンドトキシニンに

対する感受性も増強させ、ROS の産生を亢進させる。

ROSにより引き起こされる慢性肝疾患の病態 (図2)

過剰に産生された ROS は直接的に、あるいは NF-κB の活性化を介して TNF-α, TGF-β, IL-8, Fas リガンドなどサイトカインの発現を誘導することで、また産生された 4-HNE(4-hydroxynonenal)などの脂質過酸化物質と協調して、炎症、細胞死、線維化など慢性肝疾患の病態形成や癌化に働く^{5,7)}。

1. 炎症と細胞死

ROS により産生される TGF-β, IL-8, あるいは 4HNE は好中球走化因子として好中球を動員して炎症を引き起こし、さらなる ROS 産生に働く。一方、ROS はさまざまな機序で肝細胞死(アポトーシス、「サイドメモ2」参照)を誘導する。たとえば、肝細胞表面上で Fas や Fas リガンド(Fas-L)の発現を増強し、Fas-L/Fas 系を通して caspase cascade を活性化し、アポトーシスをもたらす。また、ROS は Kupffer 細胞における TNF-α の産生や、肝細胞表面の TNF-α 受容体の発現を増強する。ROS や TNF-α は、ASK1(apoptosis signal-regulating kinase 1)を通してストレス応答性 MAPK(「サイドメモ3」参照)を活性化し、アポトーシスを誘導する⁸⁾。さらに ROS は、p53 蛋白質の活性化を介して細胞周期を停止させるか、あるいはアポトーシスを誘導する。p53 蛋白質の標的分子のうち、細胞周期の停止に関与するものとしては、p21/Waf-1, 14-3-3, アポトーシスに関与するものとして Bax, あるいは Fas などがあげられる。また、活性化された p53 蛋白質が Mn-SOD の発現を低下させ、ROS の産生を



ROSと酸化ストレス

生物は酸素を H₂O に変換する過程で多量の ATP を産生しているが、その際、活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)の発生を伴う。また、放射線やサイトカインも細胞内に ROS を産生する。ROS にはスーパーオキシド(O₂⁻)、過酸化水素(H₂O₂)、ヒドロキシルラジカル(·OH)、一酸化窒素(NO)などが含まれる。中でも O₂⁻ は大量に産生されるが、·OH に比べて反応性は弱い。一方、·OH は反応性が強いが、半減期が短く細胞内を拡散できない。また、生体内には酸素より直接·OH を生成する経路はない。しかし、·OH は H₂O₂ が Fe²⁺ などの存在下に還元を受けると生成される Fenton 反応)こと、H₂O₂ はほとんどが O₂⁻ から生じ、細胞内では金属イオン存在下では O₂⁻ が発生するとともに·OH が発生する。また、細胞外の H₂O₂ は細胞膜を通過して細胞内で·OH に変換される。細胞内では、還元物質グルタチオン(GSH)とチオレドキシン(TRX)が重要である。抗酸化作用では量として GSH のほうが優位であるが、TRX は GSH の還元を促進するときに誘導されるうえに、NF-κB など炎症反応に数桁以上の特異性を示す。また、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)やカタラーゼは、それぞれ O₂⁻ の消去に働く。ROS 産生系が消去系に勝ると ROS は酸化ストレスとなり、さまざまな細胞障害が引き起こされる。

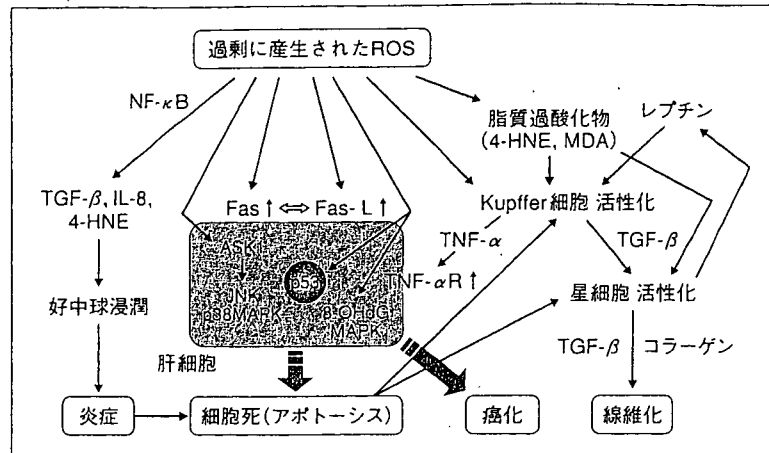


図 2 ROSにより引き起こされる慢性肝疾患の病態

過剰な ROS は直接的に、あるいは NF- κ B の活性化を介して TNF- α , TGF- β , IL-8, Fas リガンドなどのサイトカインの発現を誘導することで、さらには産生された 4-HNE, MDA などの脂質過酸化物質と協調して、炎症、細胞死や線維化など慢性肝疾患の病態を形成する。さらには肝発癌にも関与する。

Fas-L: Fas リガンド, TNF- α R: TNF- α 受容体, 4-HNE: 4-hydroxynonenal, MDA: malonaldehyde.

さらに増強することも報告されている⁹⁾。一方、ROS そのものや、産生された 4-HNE や MDA (malonaldehyde) は、複合体 IV を含む Mt 呼吸鎖の構成分子に障害を与え呼吸鎖機能を阻害し、さらなる ROS 産生を

サイドメモ 2

アポトーシス

遺伝子にプログラムされた細胞死であり、重篤な DNA 障害時や、恒常性維持のために細胞が不要になった場合に、プログラムが on になる。誘導因子のうち、Fas リガンドなどの death factor は受容体を介して (extrinsic pathway)。またストレスは、ストレス応答性 MAPK (mitogen-activated protein kinase) を介してミトコンドリア (Mt) からチトクローム C (cyt.c) を放出することで (intrinsic pathway)、最終的には蛋白質分解酵素 caspase 3 (や 6, 7) を活性化し、DNA 断片化や核構造蛋白質の分解を伴うアポトーシスを導く。肝細胞では、death factor からのシグナルは Mt をも經由し増強される。制御因子 Bcl-2 family のうち、anti-apoptotic family は pro-apoptotic family と複合体を形成しているが、増殖因子などからの生存シグナルにより後者がリン酸化されると複合体が解離し、前者が Mt からの cyt.c の放出を阻害してアポトーシスを抑制する。また、生存シグナルは NF- κ B を介して anti-apoptotic family の発現を誘導する。

サイドメモ 3

ストレス応答性 MAPK

MAPK (mitogen-activated protein kinase) ファミリーは、細胞増殖、分化、ストレス応答、さらにはアポトーシスを担う重要な細胞内情報伝達分子である。構造上の違いから、ERK (extracellular signal regulated-kinase, 古典的な MAPK) とストレス応答性 MAPK (JNK, p38MAPK) とに分類される。酸化ストレスは ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1) を介してストレス応答性 MAPK を活性化し、Mt からチトクローム C の放出を通して caspase 依存性細胞死 (アポトーシス) を誘導する。重要な点は、酸化ストレスによるこれらの酵素の活性化を、細胞内酸化還元状態が修飾していることである。すなわち、ASK1 に対して還元型 TRX はその N 末端側に結合し活性を抑えるが、酸化的条件下では酸化型 TRX に変わり、ASK1 から離脱し ASK1 の活性化がもたらされる。ERK と JNK は細胞の生存に関しては相反する働きをなすとされており、ERK の活性低下と JNK の活性増強が相まってアポトーシスが誘導される。また、p38MAPK は一般的にアポトーシス誘導に働くと考えられているが、酸化ストレスの種類、細胞の種類によっては細胞の生存に働く場合がある。ストレス応答性 MAPK の標的分子としては、癌遺伝子産物 c-Jun 蛋白質や p53 蛋白質があげられる。