<短 報>

肝再生におけるアルドラーゼ遺伝子発現の変化

本村 光明 尾崎 岩太 堺 隆弘*
城 圭一郎 向井 常博 堀 勝治**

はじめに：アルドラーゼアイソザイム (EC 4, 1, 2, 13) は六炭糖のフルクトース 1, 6ニリン酸を三炭糖のジヒドロキシアセトンリン酸とグリセルアルデヒド三リン酸に開裂・縮合する解糖系の酵素であり分子量16万ダルトンで四量体を形成する。現在、三つのタイプが知られており、それらは筋型 (A型)、肝型 (B型) および脳型 (C型) と呼ばれている。これら三種類の酵素は組織特異的 (臓器特異的) の発現を示し、発生・分化に伴って発現の型転換を行い、肝では胎生初期の分化以前には C型が主で、胎児では A型、肝の成熟とともに B型が出現することが知られている¹⁾。また癌化にともない、特に肝臓癌で B型から A型に移行する例が知られており、癌化と遺伝子発現の異常との関連において興味をもたれる。今回、部分切除後肝再生におけるアルドラーゼ遺伝子の mRNA の発現を経時的に検討した結果、興味ある結果を得たので報告する。

方法：ウイスター系雄性ラット (体重200g) を2/3部分肝切除し経時的に再生肝を摘出し Hot Phenol 法で total RNA を摘出し oligo-dT カラムで polyA⁺RNA を分画しノーザン法によりアルドラーゼ A・B・C, アルブミン, β -アクトチンの mRNA の発現を検討した。アルドラーゼ A の mRNA には、骨格筋で発現している M型と胎児肝・脳などで発現している AH型が存在する^{2,3)}が、アルドラーゼ A の M型の cDNA プローブを用いて S₁スクリーニング法を行った。

次に、4日目・7日目の再生肝をコラゲナーゼかん流後に、percoll による密度勾配遠心により肝実質細胞を分離し、アルドラーゼ A の mRNA の発現を検討した。正常肝と部分肝切除後4日目の再生肝の核を回収し、Huang らの方法⁴⁾により in vitro 核転写を行い、あらかじめアルドラーゼ A・B, アルブミン cDNA をドットスポットしたニトロセルロースフィルターに、in vitro 核転写で得た riboprobe を加え60℃で72時間ハイブリダイゼーションを行うことによりアルドラー

ゼ A・B の核での転写効率を検討した。

結果：部分切除後再生肝ではアルドラーゼ B の発現は経時的に不変だった。一方、アルドラーゼ A の発現は再生2日目から増加し4日目にピークを示し再生14日目でも増加していた (Fig. 1)。アルドラーゼ C の発現は同定されなかった。 β アクトチンの発現は再生3日から増加し4日にピークを示したが14日には正常レベルに復し肝再生時の細胞増殖と一致した発現の変化を示した。肝再生時に増加したアルドラーゼ A の mRNA の型を調べるために M型の cDNA プローブを用いて S₁スクリーニング法を行った結果、アルドラーゼ A の AH型の mRNA の発現が増加していた (Fig. 2)。また、percoll 分画後の肝実質細胞での発現を検討した結果、再生肝の肝実質細胞でアルドラーゼ A の発現が増加していることが明らかとなった。この発現の増加が核での転写効率によるのか

Fig. 1 Expression of Aldolase A and B mRNA in liver regeneration

* 佐賀医科大学内科

** 同 生化学

<受付日63年1月13日>

Fig. 2 S₁ nuclease analysis of rat Aldolase A mRNA in liver regeneration

どうかを調べるため正常肝と部分切除後4日目の再生肝の核を回収し in vitro 核転写を行った。その結果、アルドラーゼ A・B、アルブミンの転写効率は、正常肝と再生肝4日目で著明な変化はみられなかった。

考案：アルドラーゼは組織特異的な分布を示し発生・分化や癌化に伴ってその発現パターンは特有の変化を示す⁹⁾。組織特異的に発現するメカニズムや発生・分化に伴うアイソザイム間のスイッチング機構を明らかにすることは癌化の解明にも重要と思われる。

部分切除後の肝再生においてアルドラーゼ・ビルビン酸キナーゼ・ヘキソキナーゼなどのアイソザイムが一過性に胎児性パターンをとることは蛋白レベルでは以前から知られていた⁹⁾。肝再生時に肝実質細胞の酵素偏倚が生じ、この変化は細胞分裂が生じる以前にみられることが多い。この酵素偏倚は部分切除後に生じる肝再生の調節因子（インスリン・グルカゴン・EGFなどの液性因子や、コラーゲン・神経因子・肝細胞膜調節因子¹⁰⁾など）によって誘導される現象と思われる。

肝再生の調節因子が残余肝に作用しアルドラーゼ遺伝子の発現も変化すると考えられる。ノーザン法の結果から再生肝ではアルドラーゼ A の発現が増大していたが、正常肝と再生4日目の in vitro 核転写にはアルドラーゼ A の転写効率に著明な変化はみられず転写後のアルドラーゼ Am RNA の安定化によっていると思われた。解糖系酵素の一つであるビルビン酸キナーゼも再生肝において成体型の L 型が減少し胎児型の M 型が増加すると報告されている⁷⁾。またビルビン酸キナーゼの mRNA の発現はグルカゴンや C-AMP の投与により転写後にも調節される⁹⁾。再生時に胎児型アイソザイムを産生する細胞として網内系細胞とする説⁹⁾と、一過性に变化した肝実質細胞とする説⁷⁾があるが、mRNA の発現の結果から再生時の肝実質細胞が産生することが明らかとなった。現在、初代培養肝細胞系や in situ hybridization による検討を行っている。

索引用語：再生肝、アルドラーゼ遺伝子

文献：1) Horecker BL: In the Enzymes, vol. 7, Edited by Boyer PD, Academic Press, New York, 1972, p213—258 2) Mukai T, et al: J Biol Chem 261: 3347—3354, 1986 3) Joh K, et al: J Mol Biol 190: 401—410, 1986 4) Marzluff WF, et al: Transcription and translation, Edited by Hames BD, IRL Press, Oxford, England, 1984, p89—129 5) Edwards YH, et al: In: Isozymes, vol. 1, Edited by Rattazzi MC, Alan R. Liss Inc, New York, 1977, p19—78 6) Berges J: FEBS Letters 48: 76—79, 1974 7) Bonney RJ, et al: Biochem J 136: 947, 1973 8) Vaulont S, et al: J Biol Chem 261: 7621—7625, 1986 9) Weber A, et al: Biochem Biophys Res Commun 86: 6—13, 1979 10) Nakamura T, et al: Proc Natl Acad Sci USA 80: 7229—7233, 1983

Change of aldolase gene expression during liver regeneration

Mitsuaki MOTOMURA, Iwata OZAKI, Takahiro SAKAI*, Keiichiro JOH,
Tsunehiro MUKAI and Katsuji HORI**

* Department of Internal Medicine, Saga Medical School (Saga)

** Department of Biochemistry, Saga Medical School (Saga)