

論 文 内 容 要 旨

Enhancing hepatic fibrosis in spontaneously hypertensive rats fed a choline-deficient diet

(コリン欠乏食餌下高血圧自然発症ラットにおける肝線維化の促進)

Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences,
23(5):260-269,2016

主指導教員：田妻 進 教授

(広島大学病院 総合診療医学)

副指導教員：木原 康樹 教授

(医歯薬保健学研究科 循環器内科学)

副指導教員：茶山 一彰 教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・代謝内科学)

山本 理哉

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

【背景と目的】

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) はメタボリック症候群を持つ患者の肝にしばしば認められ、肥満、脂質異常症、糖尿病、高血圧と深く関与する。高血圧の合併が NAFLD 患者に多く報告され、また本態性高血圧患者は肝脂肪化を伴うことから両者の因果関係が注目されている。

我々の教室では高血圧自然発症ラット (SHR) を用いて、肝内リン脂質代謝異常を誘導するコリン欠乏食 (C D 食) で飼育すると比較的短期 (5 週間) に酸化ストレス亢進を伴う肝脂肪化を惹起することから NAFLD モデルとして報告した。一方、NAFLD は肝線維化への進展と肝発癌リスクが臨床的に関心をもたれていることから、本研究では本モデルの長期飼育により肝線維化を含む肝病態の進展の有無とその発現メカニズムを検証した。

【方法】

8 週齢雄の SHR と WKY (normotensive Wistar Kyoto rats) に 5 週間、及び 20 週間の CD 食を投与し (SHR 群、WKY 群、5 及び 20 週、各群 n=5)、血清および肝組織中の脂質 (遊離脂肪酸 FFA、中性脂肪 TG) と酸化ストレス指標 (TBARS) の測定と、肝病理組織の評価を行うとともに、脂質代謝関連因子 (脂肪酸代謝関連として PPAR α と ACOX、肝内 TG 分泌に関与する MTP と APO-B100)、酸化ストレス関連因子 (catalase、GPx、GST)、線維化関連因子 (TGF- β 、Vimentin、CTGF) の遺伝子発現を定量 PCR 法にて評価した。

【結果】

1) SHR 群では 5、20 週間投与共に WKY 群に比べて血清 FFA が高値を示し、さらに 5 週間投与より 20 週間投与において著明に上昇していた。血清 TG は 5 週間投与では WKY 群に比べて SHR 群で低値であったが、20 週間投与では SHR 群の方が高値であった。一方、肝内 TG 量は対照的に 5 週間投与で SHR 群が上昇し、20 週間投与で低下していた。

肝内 TBARS 量は 5 週間投与では SHR 群で WKY 群に比べて上昇していたが、20 週間投与では両群間に差がなかった。

2) 肝臓の組織所見において、5 週間投与の WKY 群では僅かな脂肪変化を示すのみであったが、SHR 群では顕著な脂肪変性を示した。さらに 20 週間投与では SHR 群で明らかな線維性変化を示した。

3) 脂質代謝関連遺伝子においては FFA の酸化酵素である PPAR α と ACOX、肝内 TG 分泌に関与する MTP や APO-B100 を測定し、5 週間投与では全ての項目で SHR 群の方で明らかな減少がみられた。20 週間投与においては ACOX 以外では両群間で差がなく、ACOX でのみ SHR 群で上昇していた。

4) 抗酸化酵素関連遺伝子においては catalase、GPx、GST を測定し、5 週間投与で SHR 群の発現が WKY 群に比べて低下していた。20 週間投与では GPx 以外では両群間に差がなく GPx でのみ SHR 群の方で低下していた。

5) 線維化関連遺伝子においては、TGF- β 、Vimentin、CTGF を測定し、20 週間投与後 SHR 群において明らかに上昇していた。

【考察】

- 1) 本研究においてリン脂質代謝異常を引き起こす CD 食の長期投与により高血圧ラット SHR において肝脂肪化から肝線維化への進展が促進されることが明らかになった。5 週間の CD 食投与により、WKY 群に比較して SHR 群で肝細胞への TG 蓄積と肝脂肪化が促進され、さらに CD 食負荷の長期間継続により肝線維化が進展して、肝内に蓄積されなくなった TG の血中分泌が促進されたと考えられた。
- 2) 一方、脂肪酸や脂質のセンサーとして機能しエネルギー消費を促進させる PPAR α や脂肪酸代謝に関わる ACOX の遺伝子発現が 5 週間の CD 食投与により SHR 群において低下していたことから、 β 酸化や ω 酸化が減少し、肝細胞への TG 蓄積と肝脂肪化を助長したと考えられた。さらに 20 週間の CD 食投与後に SHR 群で顕著な線維化が起こり、逆に脂肪化は消退したことから、NASH における線維化の進展と共に肝内の中性脂肪滴が減少する”burnt-out NASH”と類似した現象が惹起されたものと思われた。
- 3) NASH の病因の一つとして注目される活性酸素の役割については 5 週間の CD 食投与による SHR 群において肝脂肪化については Catalase, GPx, GST の発現低下による活性酸素の相対的産生増強と連動するものと考えられた。しかしながら肝線維化は GPx が主に関与して危機的な状況下で抗酸化の役割を果たしているものと推測された。

【結語】

以上より、本研究では高血圧における酸化ストレス増強が、肝脂肪化を促進し、NAFLD の線維化への進展促進因子として作用すると考えられた。