

## 論文審査結果の要旨

氏名 小野 裕美

食の欧米化に伴い、我が国では肥満、特に、内臓脂肪蓄積によるインスリン抵抗性を基盤とするメタボリックシンドローム (Met. S) 患者が増加している。非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) は Met. S における肝の表現型である。

NAFLD は非アルコール性脂肪肝 (NAFL) から、進行した非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis : NASH) までが含まれ、NASH はさらに肝硬変、肝臓癌へと進行しうる疾患であることが知られている。現在、NASH 患者は人口の 0.75%、約 100 万人と推定されているが、今後肥満者の増加に伴い、さらに増加することが予想される。しかし、NAFL のどのような患者が NASH に進行するのか不明であり、NAFLD の病態は十分に解明されておらず、その解明は急務である。

NASH の発症機序としては、1998 年、Day らが提唱した two hit theory が広く受け入れられてきた。まず、first hit として、肝細胞に脂質 (トリグリセリド) が蓄積し、脂肪肝を発症する。ついで、酸化ストレスなどの second hit による刺激が加わり、炎症細胞浸潤や繊維化が生じて NASH が形成されるという考え方である。しかし、肝脂肪化および酸化ストレス刺激・炎症は段階的に生じるのではなく、同時に進行するという考え方、multiple parallel hits hypothesis が Tilg らにより提唱され (2010 年)、広まりつつある。いずれにしても、NASH 発症機序に酸化ス

トレスが関与することは明らかである。

本研究では、NASH 発症との関連が推定される 4 種のストレス誘導バイオマーカー：メタロチオネイン (metallothionein : MT) -1/2、MT-3、ヘムオキシダーゼ (hemoxygenase : HO) -1、アディポネクチン (adiponectin : AdN) のヒト肝臓における発現を分析し、NASH との関連を検討した。

MT の機能としては、カドミウム (Cd)、水銀 (Hg)、銅 (Cu) など重金属の解毒、亜鉛 (Zn) 代謝、酸化ストレス除去作用などが指摘されているが、これまで NASH との関係を検討した研究はない。また、最近、群馬大学の長嶺らは、高感度 MT ELISA 測定法を開発し、血漿中、組織中の MT 測定が可能となった。MT は酸化ストレス除去作用があり、NASH 病態に関与することが推定される。

本研究では、正常肝 5 例、NAFL14 例、NASH18 例の合計 37 例の肝生検サンプルを対象として、抗 MT-1/2 抗体、抗 MT-3 抗体、抗 HO-1 抗体および抗 AdN 抗体を用いた免疫組織染色を行った。また、染色された面積を Image J 1.38 X ソフトウェアを用いて半定量化した。NAFL および NASH の組織診断は HE 染色を行い、群馬大学病理部に依頼し、脂肪変性があるが壊死性炎症のないものを NAFL、壊死性炎症のあるものを NASH とした。本研究は、女子栄養大学倫理委員会の承認を得ており、患者からの同意書を得て行った。

MT-1/2 は肝細胞の細胞質および核で発現し、NASH は正常肝および NAFL に比較して染色面積が有意に低下していた。MT-3 は血管壁(平滑筋細胞)で発現し、3 群で染色面積に有意差を認めなかった。HO-1 はクッパー細胞のみに発現し、染色面積は正常肝、NAFL よりも NASH は有意低下を認めた。AdN は血管壁 (内皮細胞、平滑筋細胞) でのみ発現し、染色面積

は正常肝、NAFL に比較して NASH で有意低下を認めた。また、NASH 例を MT-1/2 低発現群（8 例）および MT-1/2 高発現群（10 例）に分類し、他のバイオマーカーを比較した。HO-1 発現は、正常肝、NAFL、MT-1/2 高発現群、MT-1/2 低発現群の順に低下、AdN 発現は、MT-1/2 低発現群および MT-1/2 高発現群間には有意差を認めなかったが、NASH は NAFL および正常肝よりも有意に低下した。

本研究により、NASH は NAFL および正常肝に比較して、ストレス誘導バイオマーカーである MT-1/2、HO-1 および AdN の発現の低下を認めた。また、それぞれのバイオマーカーの発現部位の異なることが明らかにされた。特に、NASH における MT-1/2 の発現低下は世界で初めて示される結果であり、MT-1/2 の発現部位が肝細胞であることから、NASH 発症の原因バイオマーカーであり、また、肝細胞傷害の治療ターゲットとなる可能性を示唆するものである。以上から本研究は博士（栄養学）の授与に値するものと認められる。

なお、本研究は KITAKANTO Medical Journal に論文掲載されたが、平成 26 年度最優秀論文に選ばれた。

**【論文審査委員】**

(委員長) 教授 田中 明  
教授 香川 靖雄  
教授 林 修  
教授 山田 和彦  
教授 堀江 修一