

博士（栄養学）学位論文要旨

非アルコール性脂肪肝（non-alcoholic fatty liver : NAFL）および  
非アルコール性脂肪性肝炎（non-alcoholic steatohepatitis : NASH）  
におけるストレス誘導バイオマーカーの検討

Stress-induced Biomarkers in Liver with Non-Alcoholic Fatty Liver  
(NAFL) and Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH)

2015 年

指導教員 田中 明 教授

氏名 小野 裕美

ONO, Hiromi

女子栄養大学

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 (non-alcoholic fatty liver disease : NAFLD) は Met S における表現型である。

NAFLD には良性の非アルコール性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver : NAFL) と、それが進行した非アルコール性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis : NASH) 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、NAFL 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。

現在、NASH の発症機序としては、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 が形成されると考えられている、two hit theory、また近年、アディポサイトカインや酸化ストレス、食事因子など様々な因子が並行して肝臓に作用し NASH の病態進展に関与しているという multiple parallel hits hypothesis も提唱されている。

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、重症度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、NASH 病態に関与することが推定されるが、これまで NASH との関係を検討した研究はない。群馬大学の長嶺らは、高感度 MT ELISA 測定法を開発した。

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 1.38X 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、群馬大学名誉教授 (病理学) に依頼した (脂肪変性があるが壊死性炎症のないものを NAFL、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、各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、ほかのバイオマーカーを比較した。NASH の MT-1/2 低発現群における HO-1 発現レベルは、NASH ( $p < 0.05$ )、正常肝 ( $p < 0.01$ ) よりも低かった。AdN 発現は、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における新規のストレス誘導損傷を示す重要なマーカーとなることが示され、肝細胞傷害の治療ターゲットとなる可能性が示された。