

氏名	鱒 淵 真 介
(ふりがな)	(ますぶち しんすけ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成 25 年 1 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	Chymase inhibitor ameliorates hepatic steatosis and fibrosis on established non-alcoholic steatohepatitis in hamsters fed a methionine- and choline-deficient diet (メチオニン・コリン欠損食誘発性ハムスター非アルコール性脂肪肝炎モデルにおける脂肪肝と肝線維化に対するキマーゼ阻害薬の治療効果)
論文審査委員	(主) 教授 樋 口 和 秀 教授 朝 日 通 雄 教授 花 房 俊 昭

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《研究目的》

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は、飲酒歴が無いにも関わらずアルコール性肝障害に類似した病理所見を認める疾患で、肝硬変や肝癌にまで進行する。NASH は脂肪肝に肝細胞の変性や線維化、炎症などが加わる病態であるが、有効な治療法は確立されていない。これまでにアンジオテンシン II (AII) や肥満細胞と NASH の関連が報告されており、それらに関連するキマーゼに着目した。キマーゼは肥満細胞顆粒中に存在し、アンジオテンシン I (AI) を AII へ変換する酵素で、アンジオテンシン変換酵素と同様に AII を産生することが知られている。

本研究ではメチオニン・コリン欠損（MCD）食誘発性のハムスターNASH モデルを作製し、発症した NASH に対するキマーゼ阻害薬の治療効果を検討した。

《方 法》

ハムスターを 5 群にわけて、12 週間と 24 週間のモデルを作製した。12 週間のモデルはコントロール群として標準固形飼料を、NASH モデル作製群として MCD 食を与え、12 週間の時点で NASH モデルの完成を確認した。24 週間のモデルは、コントロール群、MCD 食+偽薬(生理食塩水)群、MCD 食+キマーゼ阻害薬（TY-51469）群の 3 群に分けた。偽薬およびキマーゼ阻害薬の投与は NASH モデルが形成された 12 週目の時点から投与を開始し、治療効果を検討した。

解析項目を以下に示す。血漿中の AST と ALT を測定した。組織学的検討として肝臓の脂肪滴と線維化面積の測定および肥満細胞数、キマーゼ陽性細胞数と AII 陽性細胞数を定量した。肝組織中のキマーゼ活性、AII レベルとマロンジアルデヒド（MDA）レベルを測定した。Real-time polymerase chain reaction を用いて肝組織内の I 型コラーゲン、III 型コラーゲン、 α -smooth muscle actin (SMA)、Rac-1、sterol regulatory element binding protein (SREBP)-1c、fatty acid synthase (FAS)の遺伝子発現レベルを測定した。

《結 果》

試験開始後 12 週間の時点で、MCD 食群ではコントロール群と比較して肝組織内の脂肪滴と線維化の面積および血漿中の AST と ALT の有意な上昇を認め、NASH の形成を確認した。また、24 週間 MCD 食を負荷した偽薬群は、12 週間の MCD 食群と比較して、脂肪滴と線維化の面積および血漿中の AST と ALT が更に増加しており、より進行した病態となっていたが、キマーゼ阻害薬群ではコントロール群レベルまで改善された。

肝組織切片において、肥満細胞、キマーゼ陽性細胞と AII 陽性細胞の局在は、ほぼ一致した。肝組織中のキマーゼ活性、AII レベルは偽薬群がコントロール群より有意に上昇したが、キマーゼ阻害薬群では偽薬群より有意に減少した。肥満細胞数は有意差を認めなかつ

たが同様の傾向であった。

酸化ストレスのマーカーである MDA レベルも同様に偽薬群がコントロール群と比較して有意に増加し、キマーゼ阻害薬群では偽薬群と比較して有意に減少した。

Rac1、SREBP-1c、FAS、I 型コラーゲン、III 型コラーゲン、 α -SMA の遺伝子発現は、偽薬群がコントロール群に比して有意に増加したが、キマーゼ阻害薬群では偽薬群に比して有意に減少した。

《考 察》

今回の実験では、キマーゼ阻害薬群は偽薬群と比較して血漿中の AST や ALT を減少させ、組織学的にも肝臓の脂肪化や線維化を抑制し、強力な NASH の治療効果を認めた。

キマーゼは AII の生成に重要な役割を果たしているが、全身性の AII 抑制を介した降圧作用を有さずに組織 AII を抑制するという特徴を持つことより、NASH の治療において安全性が高いと考える。

また、NASH において脂肪酸酸化に関連する活性酸素は重要な役割を果たしている。AII は肝星細胞において NADPH オキシダーゼを介して活性酸素の産生を促し、SREBP-1c や FAS の様な脂質合成関連遺伝子発現を促すことが確認されている。本実験ではキマーゼ阻害薬が肝組織において AII レベルを抑制することによって、NADPH オキシダーゼの構成因子である Rac1 の遺伝子発現レベルや酸化ストレスのマーカーである MDA レベル、および SREBP-1c や FAS の遺伝子発現レベルを低下させ、脂肪化の抑制につながったと考えられる。

また、AII は肝星細胞に作用して線維化も促すが、キマーゼ阻害薬は肝組織での AII レベルを減少させ、肝星細胞の活性化に関わる α -SMA の発現抑制を介して肝の線維化を改善したと推測される。

《結 論》

キマーゼ阻害薬は MCD 誘発性ハムスター NASH モデルに対し、線維化や脂肪化を抑制

し、NASH の治療薬として有用であり、今後の臨床応用が期待される。

論文審査結果の要旨

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は、飲酒歴が無いにも関わらずアルコール性肝障害に類似した病理所見を認める疾患で、肝硬変や肝臓にまで進行するが、未だ有効な治療法は確立されていない。本研究ではメチオニン・コリン欠損 (MCD) 食誘発性のハムスター NASH モデルを作製し、発症した NASH に対するキマーゼ阻害薬 TY-51469 の治療効果を検討した。

その結果、キマーゼ阻害薬群は偽薬群と比較して、血漿中の AST と ALT の低下、肝組織での脂肪滴や線維化の改善、肝組織内の各種活性や遺伝子解析においても酸化ストレスマーカー、トリグリセリド合成関連因子、線維化マーカーの低下を認め、ほぼ正常化されており強力な治療効果を認めた。

キマーゼは肥満細胞顆粒中に存在し、アンジオテンシン I をアンジオテンシン II (AII) へ変換する酵素で、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) と共に AII の産生に重要な役割を果たしている。AII は肝星細胞において線維化を促したり、活性酸素の産生を促して脂質合成関連遺伝子を発現する作用が知られている。本研究ではキマーゼ阻害薬が肝組織での AII レベルを減少させ、線維化や脂肪化を抑制したものと推測される。キマーゼ阻害薬は ACE 阻害薬や AII 受容体拮抗薬とは異なり、全身性の AII 抑制を介した降圧作用を有せずに組織 AII を抑制するという特徴を持つことより、NASH の治療において安全性が高いと考えられる。

結論として、キマーゼ阻害薬は MCD 誘発性ハムスター NASH モデルに対し、線維化や脂肪化を抑制し、NASH の治療薬として有用であり、今後の臨床応用が期待される。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Hepatology Research 2013, in press