

令和元年6月27日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09703

研究課題名(和文) 小児脂肪性肝疾患の抗酸化療法における新規酸化ストレス評価法の検討

研究課題名(英文) Novel evaluation method of oxidative stress in pediatric patients with non-alcoholic fatty liver disease

研究代表者

玉井 浩 (TAMAI, HIROSHI)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：30179874

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪肝炎(NAFLD)は一般的な肝臓疾患であり、成人および小児でもその発症率は増加している。抗酸化作用を有するビタミンEはNAFLDに有効であるが、その作用機序はまだ未だ不明である。以前我々は、NAFLDモデル(メチオニン・コリン欠乏食)ラットにおいて、ビタミンE療法では、肝臓中 α -トコフェロール輸送タンパク質が重要な役割を果たしていることを示した。本研究では、afamin(α -トコフェロール結合タンパク質)が α -トコフェロール動態に影響し、過酸化脂質障害の抑制に関与している可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪肝と非アルコール性脂肪肝炎との鑑別は、臨床上的有力な鑑別方法はない。しかし非アルコール性脂肪肝炎疑い症例を効率よく抽出することは、検査方法を組み合わせることで可能かもしれない。我々の研究は、早期の非アルコール性脂肪肝炎疑い症例の検出に寄与することが期待される。さらに小児期における生活習慣病の予防に有益な情報を与えることが考えられる。また、非アルコール性脂肪肝疾患における抗酸化療法の新たな戦略を見いだすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease, and its incidence is increasing in adults and children. Vitamin E is useful for treatment of NAFLD as an antioxidant therapy, however the mechanism of the therapy is remained to be determined. Previously, we demonstrated that altered hepatic α -tocopherol transfer protein (α -TTP) expression may have a key role in the treatment of vitamin E for methionine-choline deficient (MCD) rats as the experimental model of NAFLD. In the current study, we suggested that afamin, the binding protein of α -tocopherol, may affect α -tocopherol status in the liver and circulation, and have the relationship with the reduced lipid peroxidation.

研究分野：小児科学

キーワード：脂肪性肝疾患 ビタミンE 酸化ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームは肥満を基盤として高血圧・インスリン抵抗性・脂質異常症を発症することであり、その原因は不摂生な生活習慣である。代表的な生活習慣病である糖尿病・脂質異常症・高血圧などは、お互いに合併することが多く、さらに動脈硬化症の危険因子となり、脳血管障害などの重篤な疾患に至ることが懸念される。生活習慣病の予防には、小児期から肥満を発見し、進行の予防および治療することが重要である。肥満の増加は非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD; non-alcoholic fatty liver disease) の有病率の上昇にも大きく影響している。非アルコール性脂肪肝のひとつとして非アルコール性脂肪肝炎 (NASH; nonalcoholic steatohepatitis) がある。NASH は肝脂肪変性に肝実質の炎症・壊死、線維化を伴う慢性の炎症性疾患である。その治療法として、ビタミン E の抗酸化療法が注目されている (Sanyal, New Engl J MED, 2010)。近年、小児科領域においても、NAFLD に対するビタミン E 療法が報告された (Lavine JE, JAMA, 2011)。しかしその詳細なメカニズムについては明らかではない。

近年、小児肥満が高頻度で出現しており、生活習慣病の温床となる。さらに小児の NAFLD およびそのひとつである NASH の報告もある。メタボリックシンドローム予備軍である肥満児において、NAFLD の病態を明らかにすることは意義あることと考える。そこで今回我々は、NAFLD モデルの動物実験において、ビタミン E 療法による作用メカニズムを検討する。本邦における小児 NASH の臨床像を明らかにすることで、成人領域における NASH の治療戦略にも有益な知見を与えることが期待される。

2. 研究の目的

以前の研究 (基盤研究 C:2011-2013、研究代表者 玉井浩、小児期非アルコール性脂肪肝炎における酸化ストレス評価法の検討) において、我々は非アルコール性脂肪肝炎モデルのビタミン E 療法における作用メカニズムを検討した。その結果、肝臓中 α -TTP (α -tocopherol transfer protein; α -トコフェロール輸送タンパク質) が重要な役割を果たしていることが確認された。

今回我々は、さらに研究を進めて、小児における NAFLD の発症および進展について、酸化ストレスがいかに関与しているかを検討する。さらに NAFLD モデルの動物実験において、抗酸化剤療法 (ビタミン E) による作用機序を検討し、そのバイオマーカーを探索したい。本研究において、ビタミン E の作用機序を明らかにして、さらにバイオマーカーを探索することは、本邦における小児 NAFLD の臨床像の解明および小児科領域における NAFLD の治療戦略にも有益な知見を与えることが期待される。

3. 研究の方法

MCD (メチオニン・コリン制限) 食にてラットを飼育すると、肝臓に脂肪沈着が発症し、脂肪肝を呈する。さらには線維化および炎症細胞の浸潤を呈する。今回、非アルコール性脂肪性肝疾患モデルとして MCD ラットを用い、Wistar ラット (4 週齢、雄) を対照食群 (α -トコフェロール 20mg/kg 飼料) ビタミン E 過剰食群 (α -トコフェロール 500mg/kg 飼料) MCD 食群、MCD + ビタミン E 過剰食群の 4 群に分けて 4 週間飼育し、肝臓の HNE (4-hydroxynonenal) 濃度および α -トコフェロール濃度および肝臓中 afamin 遺伝子発現を検討した。

4. 研究成果

ビタミンEの主な生理作用は抗酸化であり、合計8種類の同族体から構成される(トコフェロールとトコトリエノール、それぞれ . . . の同族体)。同族体の中では、 α -トコフェロールが選択的に細胞質中の α -TTPと結合する。 α -トコフェロールは、VLDL (very low-density lipoprotein)に組み込まれて、血液中に放出される。その他のビタミンE同族体は、肝臓中で代謝される。 α -TTPは主に肝臓に発現し、その主な機能は細胞内の α -トコフェロール輸送であり、循環血液中の α -トコフェロール濃度を調節する役割を担う。前回の研究(基盤研究C:2011-2013、研究代表者 玉井浩)で、ビタミンE過剰投与は、MCD食群の肝臓中TBARS濃度を改善した。また、肝臓中の α -TTP遺伝子発現は、MCD食群およびMCD + ビタミンE過剰食群で抑制されていた。また、MCD + ビタミンE過剰食群の肝臓中の α -トコフェロール濃度は、対照食群、ビタミンE過剰食群、MCD食群などと比較して有意に上昇していた。MCD + ビタミンE過剰食群の肝臓では、 α -トコフェロール濃度は α -TTP遺伝子発現の低下の影響を受けている可能性が考えられた(図参照)。

本研究において、MCDラットに対するビタミンE過剰投与は、MCD食群の肝臓中HNE濃度を抑制した。ビタミンE投与は過酸化脂質障害の指標であるHNEを抑制することで、酸化ストレス障害が改善されたことを示す。また、肝臓中afamin遺伝子発現は血液中 α -トコフェロール濃度と同様の変化を示した。すなわち、MCD群の肝臓中afamin遺伝子発現および α -トコフェロール濃度は抑制されていたが、ビタミンE過剰食により、肝臓中afamin遺伝子発現および血液中 α -トコフェロール濃度は改善されていた(図参照)。afamin (alpha-albumin)は75 kDaのタンパク質であり、アルブミンおよび α -fetoproteinと同様にアルブミンファミリーに属する。主に、卵胞液、精のう液、脳脊髄液などの体液中に存在する。体内において、afaminは α -トコフェロールと結合し、存在することが知られている。MCD食により肝臓中afamin遺伝子発現が減少したことから、NAFLDの病態では、体液中のビタミンE濃度が低下している可能性も示唆された。さらにafaminの体内動態の検討は、NAFLDのビタミンE療法において、有効なバイオマーカーの指標となるかもしれない。なお、本研究結果を基に、動物実験および臨床研究において、さらなる検討を行いたい。

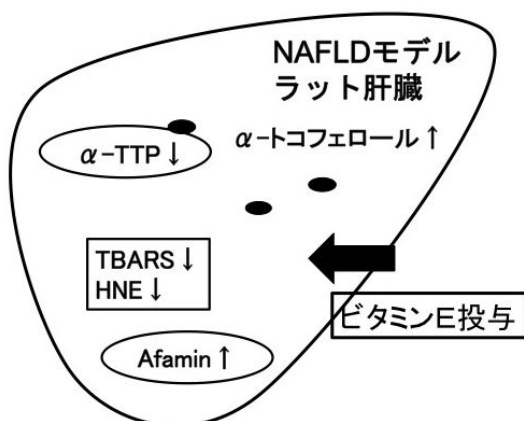


図: NAFLDモデルにおけるビタミンE効果

抗酸化作用を有するビタミンEは、小児においてもNAFLD治療の成果が期待されている。今回我々の結果では、ビタミンE動態に關与する結合タンパク質(α -TTPおよびafamin)が、NAFLDのビタミンE投与において、その遺伝子発現が影響する結果が得られた。ビタミンE

の動態および代謝メカニズムの検討は意義があると考えられ、これら遺伝子発現の検討は、酸化ストレス療法のメカニズムの解明に寄与し、さらに小児のNAFLDのビタミンE療法に対して、有益な情報を与える可能性がある。

参考文献：瀧谷公隆

「疾患におけるビタミンE濃度調節機構」

ビタミン 87,2013, 678-684

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 37 件)

1) Takitani K, Kishi K, Miyazaki H, Koh M, Tamaki H, Inoue A, Tamai H.

Altered Expression of Retinol Metabolism-Related Genes in an ANIT-Induced Cholestasis Rat Model.

Int J Mol Sci. 2018 Oct 26;19(11). pii: E3337. doi: 10.3390/ijms19113337. 査読有

2) Odanaka Y, Takitani K, Katayama H, Fujiwara H, Kishi K, Ozaki N, Ashida A, Takaya R, Tamai H.

Microvascular endothelial function in Japanese early adolescents.

J Clin Biochem Nutr. 2017;61:228-232. doi: 10.3164/jcfn.17-58. 査読有

3) Niegawa T, Takitani K, Takaya R, Ishiro M, Kuroyanagi Y, Okasora K, Minami Y, Matsuda T, Tamai H.

Evaluation of uric acid levels, thyroid function, and anthropometric parameters in Japanese children

with Down syndrome. J Clin Biochem Nutr. 2017;61:146-152. doi: 10.3164/jcfn.17-55. 査読有

4) Miyazaki H, Takitani K, Koh M, Inoue A, Tamai H.

Dehydroepiandrosterone alters vitamin E status and prevents lipid peroxidation in vitamin E-deficient

rats. J Clin Biochem Nutr. 2016;58:223-31. doi: 10.3164/jcfn.15-133. 査読有

5) Takitani K, Miyazaki H, Koh M, Kishi K, Inoue A, Tamai H.

Dehydroepiandrosterone Alters Retinol Status and Expression of the β -Carotene 15,15'-Monooxygenase

and Lecithin:Retinol Acyltransferase Genes.

J Nutr Sci Vitaminol. 2016;62:12-8. doi: 10.3177/jnsv.62.12. 査読有

6) Minami Y, Takaya R, Takitani K, Ishiro M, Okasora K, Niegawa T, Tamai H.

Association of thyroid hormones with obesity and metabolic syndrome in Japanese children.

J Clin Biochem Nutr. 2015;57:121-8. doi: 10.3164/jcfn.15-24. 査読有

7) Takitani K, Inoue K, Koh M, Miyazaki H, Inoue A, Kishi K, Tamai H.

Altered retinol status and expression of retinol-related proteins in streptozotocin-induced type 1 diabetic

model rats. J Clin Biochem Nutr. 2015;56:195-200. doi: 10.3164/jcfn.14-113. 査読有

〔学会発表〕(計 1 件)

1) 玉井浩

教育・福祉と連携したダウン症総合診療の構築を目指して

第 59 回日本小児神経学会学術集会 (2017 年 6 月、大阪)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

大阪医科大学小児科

<http://www.osaka-med.ac.jp/deps/ped/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：瀧谷 公隆

ローマ字氏名：(TAKITANI, kimitaka)

所属研究機関名：大阪医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：80319540

(2)研究協力者

該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。