

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09439

研究課題名(和文) NASH発症進展に関わる腸内細菌の影響とエクオールの効果

研究課題名(英文) Therapeutic effect of Equol on gut microbiome - mediated NASH progression

研究代表者

野口 隆一 (NOGUCHI, RYUICHI)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：30423908

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病自然発症ラットNASHモデルを用い、エクオールの効果を検討し、さらに肝線維化抑制作用をもつ糖尿病治療薬であるDPP-IV阻害剤と併用し検討を加えた。肝線維化、肝内活性化肝星細胞、TGF- β mRNAは、DPP-IV阻害剤、エクオール各単独投与により低下し、併用投与によりさらに強く抑制された。in vitroにおいて、高血糖・高インスリン条件下で促進した活性化HSCの増殖は、エクオール低用量単独添加では抑制されなかったが、低用量DPP-IV阻害剤との併用添加において有意に抑制された。臨床研究ではNASH治療薬としての可能性が示唆され、今後さらなる症例数の蓄積による解析が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エクオールは、生体において腸内細菌によって大豆イソフラボンが代謝され産生される。一方で、日本人の約50%は体内でエクオールを産生できないことが知られており、エクオールを直接摂取することにより、閉経後女性の糖・骨・脂質代謝異常、更年期症状等に対して有効に作用する可能性が示唆されている。エクオール産生の有無を尿で調べる検査キットも市販されており、エクオールは健康食品として安全性も確立されている。エクオールのNASHに対する影響はこれまで報告されていなかったが、本研究によりNASHにおけるエクオールの効果が明らかとなり、今後エクオールを用いた新たなNASH治療法の確立につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In the rat NASH model, DPP-IV inhibitor and Equol inhibited liver fibrosis along with suppression of activated hepatic stellate cells (Ac-HSCs) and TGF- β expression in the liver, and treatment with both drugs further suppressed significantly as compared with either single agent. Our in vitro data showed that low dose Equol had not directly suppressed proliferation of Ac-HSCs. However, low dose DPP-IV inhibitor and Equol suppressed proliferation of Ac-HSCs and expression of TGF- β mRNA and α 1 collagen mRNA of HSCs, compared with either single agent. Furthermore, clinical studies suggested the possibility of Equol for treating NASH.

研究分野：肝線維化

キーワード：エクオール NASH 肝線維化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

いまだ有効な治療薬のない NASH (nonalcoholic steatohepatitis; 非アルコール性脂肪肝炎) において、申請者はこれまで基礎的研究にて腸内細菌と肝疾患進展への影響を明らかにしてきた。腸内細菌によって大豆イソフラボンが代謝され産生されるエクオールは、他のイソフラボンに比べて強いエストロゲン様活性を有し、糖・脂質代謝に影響することが報告されている。一方で、日本人の約 50% が腸内細菌叢により体内でエクオールを産生できないことが知られており、さらに NASH との関連においては報告がない。

2. 研究の目的

本研究では、インスリン抵抗性やメタボリックシンドロームを背景に進展する NASH の病態に対するエクオールの新規作用とそのメカニズムを明らかにすることを目的とする。エクオールは、糖・骨・脂質代謝に影響することが報告され、糖代謝においては膵臓細胞からのグルコース誘発インスリン分泌を促進することが報告されている (Biochem Biophys Res Commun. 2018 Jul 2;501(4):1009-1015.)。申請者は基礎的研究にて、糖尿病治療薬である DPP (Dipeptidyl peptidase)-IV 阻害剤などを用いて、NASH 進展抑制効果を報告してきた (J Gastroenterol. 2014 Mar;49(3):481-91., Hepatol Res. 2017 Nov;47(12):1317-1328., Biomed Rep. 2016 Feb;4(2):183-187.)。実臨床においては、これら薬剤単独での NASH 治療効果は弱いものと考えられるが、エクオールを含め病態に応じた併用療法を行うことで新たな治療戦略が期待される。NASH の発症進展に関わる腸内細菌の影響とエクオールの効果を、基礎的・臨床的に解析し、新規治療の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) 基礎的検討：2 型糖尿病自然発症ラットである OLETF ラットにブタ血清を腹腔内投与し作成した実験的ラット NASH モデルを用いて、エクオールと DPP-IV 阻害剤を投与し検討した。*In vitro* では、肝線維化に重要な働きをする活性化肝星細胞 (HSC) を中心に検討した。
(2) 臨床的検討：非アルコール性の脂肪肝を有する患者を対象として当大学の臨床試験審査委員会で承認を得て臨床研究を行い、エクオール産生菌の有無により患者の背景因子や NASH 進展に影響する因子について解析した。

4. 研究成果

(1) 基礎的検討：ラット NASH モデルでは、肝線維化や線維化における主要な因子である肝内活性化 HSC、TGF- β mRNA は、DPP4 阻害剤、エクオール各単独投与により低下し、併用投与によりさらに強く抑制された (図 1)。*in vitro* において、高血糖・高インスリン条件下で促進した活性化 HSC の増殖は、エクオール低用量単独添加では抑制されなかったが、低用量 DPP-IV 阻害剤との併用添加において有意に抑制された (図 2)。

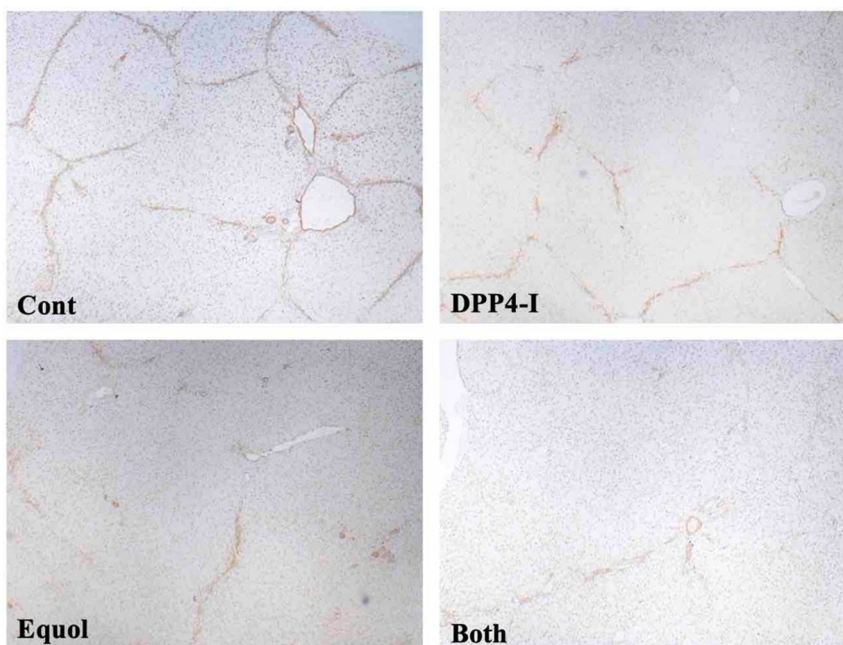


図 1 OLETF ラット+ブタ血清モデルにおける DPP-IV 阻害剤とエクオールの肝線維化・活性化 HSC の抑制効果 (SMA 免疫染色)

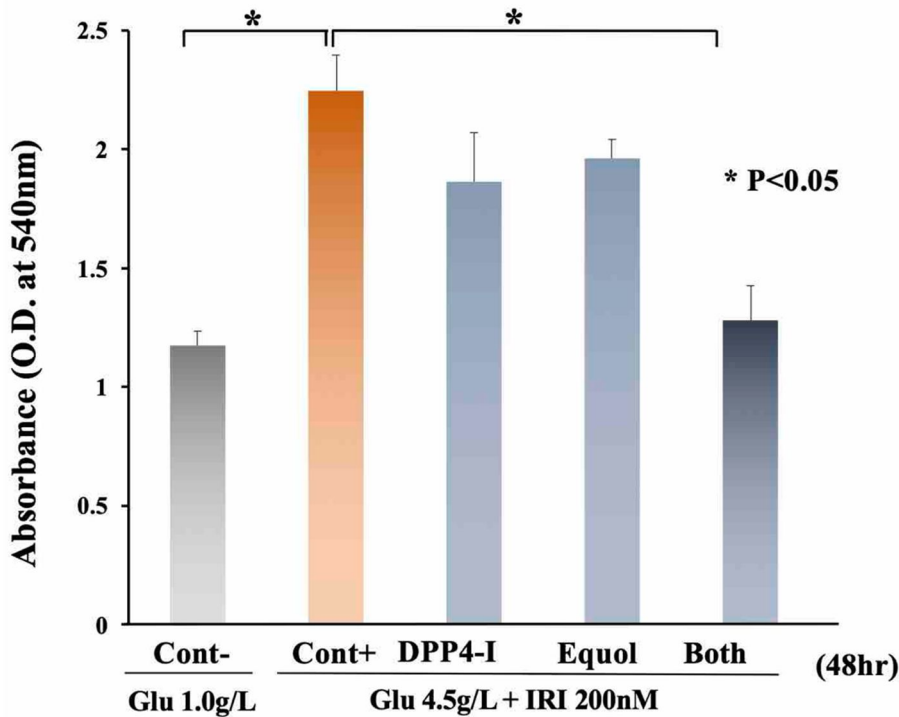


図2 高血糖・高インスリン条件下での活性化HSCの増殖におけるDPP- 阻害剤とエクオールの効果 (WST-1)

(2) 臨床的検討：脂肪肝を有する、20歳以上70歳未満、肝生検を施行、エクオール産生の有無が確認できた34名(男性13人、女性21人、年齢中央値63.2歳)を解析した。34名中21名61.8%がエクオール非産生者であり、女性で非産生者の割合が多かった。NAFLD Activity Score (NAS) score 3点以上のNASHと診断された32名(男性13名、女性19名)のうち、女性では13名68.4%がエクオール非産生者であり、NAS score 5点以上の女性11名においては10名91%がエクオール非産生者であった。女性においてNAS scoreの上昇につれ非産生者の割合が多くなり、単変量解析ではNAS score 4点以上で有意であった。さらにNAS scoreの因子のなかでもNASHの診断に寄与するballooningが非産生者で有意に高いことが明らかとなった。

(3) 成果のまとめ

本研究において、エクオールがNASHの発症・進展過程において、TGF- β を介した活性化肝星細胞の肝線維化進展を抑制すること、さらにDPP- 阻害剤と併用することによりNASH進展をより強く抑制する可能性が示唆された(論文投稿中)。エクオールは、健康食品として閉経後の女性の骨・脂質代謝異常、更年期症状等に対して有効とされ、安全性が確立されている(日本更年期医学会雑誌 15:28-37,2007)。今後エクオールを用いた新たなNASH治療法の確立につながることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Okura Y, Namisaki T, Moriya K, Kitade M, Takeda K, Kaji K, Noguchi R, Nishimura N, Seki K, Kawaratani H, Takaya H, Sato S, Sawada Y, Shimozato N, Furukawa M, Nakanishi K, Saikawa S, Kubo T, Asada K, Yoshiji H.	4. 巻 47
2. 論文標題 Combined treatment with dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (sitagliptin) and angiotensin-II type 1 receptor blocker (losartan) suppresses progression in a non-diabetic rat model of steatohepatitis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hepatol Res.	6. 最初と最後の頁 1317-1328
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.12860.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Takeda K, Noguchi R, Kitade M, Namisaki T, Moriya K, Kawaratani H, Okura Y, Kaji K, Aihara Y, Douhara A, Nishimura N, Sawada Y, Seki K, Yoshiji H.	4. 巻 16
2. 論文標題 Periostin cross reacts with the renin angiotensin system during liver fibrosis development.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol Med Rep.	6. 最初と最後の頁 5752-5758
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mmr.2017.7356.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Takaya H, Namisaki T, Kitade M, Shimozato N, Kaji K, Tsuji Y, Nakanishi K, Noguchi R, Fujinaga Y, Sawada Y, Saikawa S, Sato S, Kawaratani H, Moriya K, Akahane T, Yoshiji H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Acylcarnitine: Useful biomarker for early diagnosis of hepatocellular carcinoma in non-steatohepatitis patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 World J Gastrointest Oncol.	6. 最初と最後の頁 887-897
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4251/wjgo.v11.i10.887.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中西啓祐、鍛冶 孝祐、吉治 仁志.
2. 発表標題 Gut-Liver axis を標的としたNASH治療戦略.
3. 学会等名 日本肝臓学 会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>奈良県立医科大学消化器内科学講座ホームページ http://www.naramed-u.ac.jp/~3int/index.html</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	浪崎 正 (NAMISAKI TADASHI) (20526850)	奈良県立医科大学・医学部・講師 (24601)	
研究分担者	吉治 仁志 (YOSHIJI HITOSHI) (40336855)	奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601)	
連携研究者	守屋 圭 (MORIYA KEI) (40526852)	奈良県立医科大学・医学部・講師 (24601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	北出 光輝 (KITADE MITSUTERU) (40526795)	奈良県立医科大学・医学部・助教 (24601)	
連携研究者	鍛冶 孝祐 (KAJI KOUSUKE) (20623490)	奈良県立医科大学・医学部・助教 (24601)	