

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K10993

研究課題名(和文) 肝臓X受容体を介した非アルコール性脂肪性肝炎と心血管疾患をつなぐ臓器連関の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the organ linkage between non-alcoholic steatohepatitis and cardiovascular disease mediated by the liver X receptor

研究代表者

渡辺 彰吾 (WATANABE, SHOGO)

岡山大学・保健学域・准教授

研究者番号：20548341

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)：肝臓X受容体(LXR)活性は、一度形成されたアテローム性脂肪沈着巣からコレステロールを引き抜き、動脈硬化を退縮させる革新的な効果が期待されているが、脂質合成系遺伝子(SREBP1c)も誘導して、肝臓の脂質沈着をさらに悪化させる欠点がある。本研究では、この欠点を克服するため、目的(1)：胆汁酸によるSREBP1c活性の抑制効果と目的(2)：SREBP1cを活性させないLXR活性の新規リガンド候補であるウアバゲニンの効用について、申請者らが所有する特殊なNASH-心筋梗塞発症モデル(SHRSP5/Dmcrラット)を使用して検討した結果、脂肪肝を悪化させずに、動脈の脂質沈着が改善された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は、大きな自覚症状がないことから長年軽視されてきた。しかしながら、NASHが肝硬変、肝がんに移行することが明らかとなったことで、積極的な治療ターゲットという認識が変わってきた。また、NASHは肝臓だけにとどまらず、メタボリックシンドロームを背景とした糖尿病、脂質異常症、高血圧を悪化させ、虚血性心疾患の発症率と死亡率を2倍以上高くすることも、予後を悪くする原因となっている。増大する医療費を削減するため、自覚症状が少ない早期のNASHのうちから、積極的な治療介入を行うことができれば、致死的な虚血性心疾患への進行を事前に食い止めることができる。

研究成果の概要(英文)：Liver X receptor (LXR) activity is expected to have an innovative effect of extracting cholesterol from once formed atherosclerotic lesions and regressing arteriosclerosis, but it also induces a lipid synthesis system gene (SREBP1c). It has the drawback of further exacerbating hepatic lipid deposition. In this study, in order to overcome this drawback, the applicants have a special purpose (1): the inhibitory effect of bile acid on SREBP1c activity and the purpose (2): the efficacy of vabagenin, which is a novel ligand candidate for LXR activity that does not activate SREBP1c. As a result of examination using the NASH- myocardial infarction onset model (SHRSP5 / Dmcr rat), the lipid deposition in the arteries was improved without aggravating fatty liver.

研究分野：栄養学、保健学

キーワード：NASH 動脈硬化

### 1. 研究開始当初の背景

近年、メタボリックシンドロームの増加に伴い、飲酒歴が乏しいにもかかわらず、脂肪肝を呈する非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)が急増している。NASH の存在は、1980 年代に Ludwig らによってその概念が初めて提唱されたが、大きな自覚症状がないことから長年軽視されてきた。しかしながら、長期間の追跡調査によって、約 10 年間のうちに 20~30%が肝硬変、肝がんに移行することが明らかとなったことで、積極的な治療ターゲットという認識に変わってきた。本邦では、実に 3000 万人が NASH 予備軍といわれている。また、NASH は肝臓だけにとどまらず、メタボリックシンドロームを背景とした糖尿病、脂質異常症、高血圧を悪化させ、虚血性心疾患の発症率と死亡率を 2 倍以上高くすることも、予後を悪くする原因となっている。増大する医療費を削減するため、自覚症状が少ない早期の NASH のうちから、積極的な治療介入を行うことができれば、致死的な虚血性心疾患への進行を事前に食い止めることができる。

そのような背景のもと、NASH と動脈硬化に効果的な治療ターゲットとして、核内受容体である肝臓 X 受容体(LXR)が注目されている(図 1, 2)。LXR はさまざまな組織で発現しており、LDL(悪玉)コレステロールの分解や排泄に関わる因子として知られている。この LXR を活性化させる物質(リガンド)としては、コレステロール産物のオキシステロールが知られており、その働きによって、LXR が活性化し、細胞内のコレステロールが細胞外に排泄されるようになる。特に、動脈硬化を形成するマクロファージの LXR が活性化すると、ABCA1 や ABCG1 といったコレステロール排泄系トランスポーターの遺伝子発現誘導を介して、HDL(善玉)コレステロールがマクロファージ内の余分なコレステロールを搬出しやすくなる(図 1 下図)。これまで動脈硬化に対して有効とされているスタチン系薬剤(血清 LDL コレステロールを低下させる)は、動脈硬化の予防には効果的であるものの、すでに形成された動脈硬化巣に対しては効果がない。それに対して、LXR 活性は、LDL コレステロールを貪食したマクロファージから再びコレステロールを回収することができるため、粥状性の動脈硬化巣を退縮できる可能性がある(図 1 上図)。

### 2. 研究の目的

LXR 活性は「次世代の動脈硬化治療メカニズム」として非常に期待されているものの、肝臓の sterol regulatory element-binding protein (SREBP1c)に代表される脂質合成系遺伝子も誘導するため、肝臓の脂肪蓄積をさらに悪化させてしまうことが難点である(図 2)。したがって、目的 : SREBP1c 活性を抑制する方法や、目的 : SREBP1c 活性を誘導しない LXR の新規リガンドを見出せれば、動脈硬化と NASH を効果的に治療することが可能となる。申請者らは、下記に詳細を示すように、SREBP1c 活性を抑制する方法として脂肪酸(BA)、SREBP1c 活性を誘導しない LXR の新規リガンド候補としてウアバゲニン(OBG)に着目した。

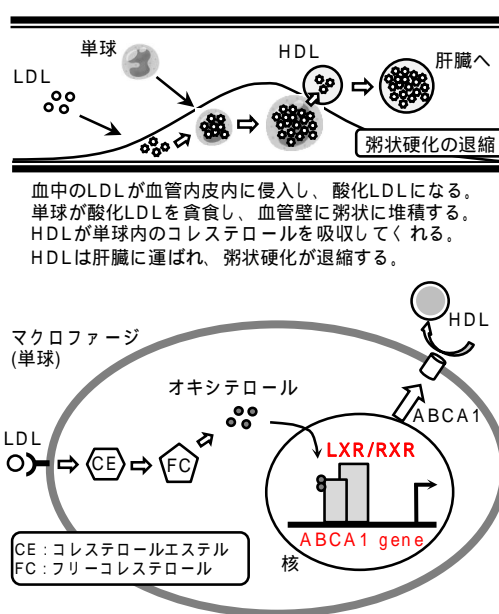


図1 粥状動脈硬化のメカニズム(上図)とマクロファージのLXR活性化によるHDLのコレステロール回収メカニズム

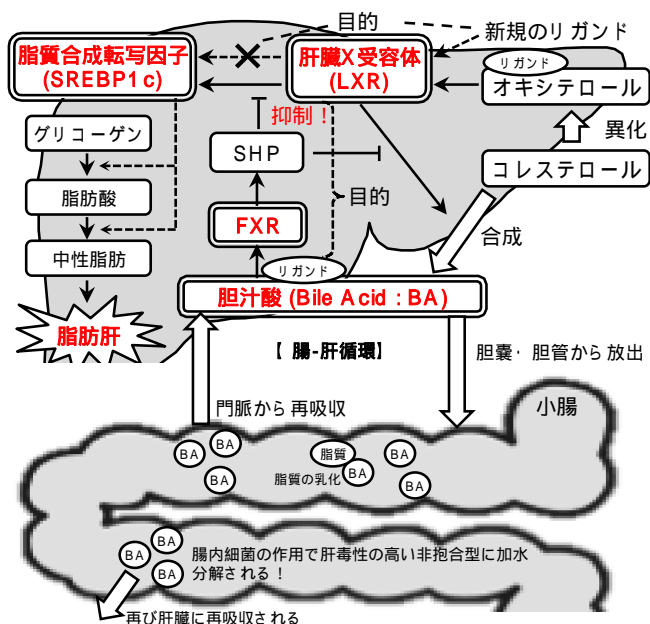


図2 肝臓における胆汁酸(BA)の代謝メカニズムと肝臓X受容体(LXR)の関係性

### 3. 研究の方法

SHR 等疾患モデル共同研究会より、雄性の SHRSP5/Dmcr ラット(n=16)を9週齢で入手し、16週齢時に摂食量、体重および血圧に有意差が生じないよう以下の3群に分けた。

- i) SHRSP5/Dmcr + HFC 食 + L-NAME . . . . . L-NAME 群 (n = 5)
- ii) SHRSP5/Dmcr + HFC 食 + L-NAME/OBG . . . . . L-NAME/OBG 群 (n = 6)
- iii) SHRSP5/Dmcr + HFC 食 (SP 食) + L-NAME + OBG . . . . . OBG 治療群 (n = 5)

L-NAME 群および L-NAME/OBG 群には、16週齢から18週齢にかけて 25 mg/kg/day の用量で L-NAME を、10mg/kg/day の用量で OBG を腹腔投与した。また、OBG 治療群には16週齢から18週齢にかけて L-NAME を、18週齢から20週齢にかけて OBG を同量投与した。18週齢時に、心エコー測定による心機能評価を行ったのち、採血および解剖を行い、生化学解析、病理学的解析、遺伝子解析を実施した。

#### 4. 研究成果

L-NAME 投与による血圧上昇は、L-NAME/OBG 群において軽度であった(図 3A)。また OBG の投与により、NASH 病態が増悪することはなかった(図 3B)。腹部大動脈への脂質沈着は、L-NAME 群が最も顕著で、L-NAME/OBG 群、OBG 治療群は軽度であった(図 3C)。遺伝子解析の結果も、生理学的解析および病理学的解析を裏付ける結果となった。OBG 投与により、L-NAME 投与後の血圧上昇が抑制され(図 3A)、血圧調節に関与する Enac の発現も抑制された。また、NASH の進行に伴い、LXR の発現量は亢進するが、OBG 投与によって Lxr およびその下流遺伝子の発現量に差異はなく、脂肪肝も増悪しなかった(図 3B)。このことから、OBG は本ラットの NASH 病態に対しても、Lxr 特異的に作用していると判断される。さらに、L-NAME/OBG 群および OBG 治療群において、腹部大動脈の脂質沈着が軽減していた(図 3C)。この結果から、OBG が動脈への脂質沈着に対する予防効果を有しているだけでなく、一度形成された脂質沈着を解消する効果も有していると考えられる。

結論として、OBG は NASH 病態においても、LXR 特異的に作用し、脂肪肝を増悪せず、動脈脂質沈着に対して予防・改善効果を有していることが示唆された。

[発表論文]

- (1) Bile acid metabolism is an intermediary factor between non-alcoholic steatohepatitis and ischemic heart disease in SHRSP5/Dmcr rats, Shota Kumazaki, Shogo Watanabe et al., Journal of Nutrition and Food Sciences, 9(4), 1-9, 2019.
- (2) Bile acids aggravate nonalcoholic steatohepatitis and cardiovascular disease in SHRSP5/Dmcr rat model, Shusei Yamamoto, Shogo Watanabe, Experimental and Molecular Pathology, 114,104437, 2020.

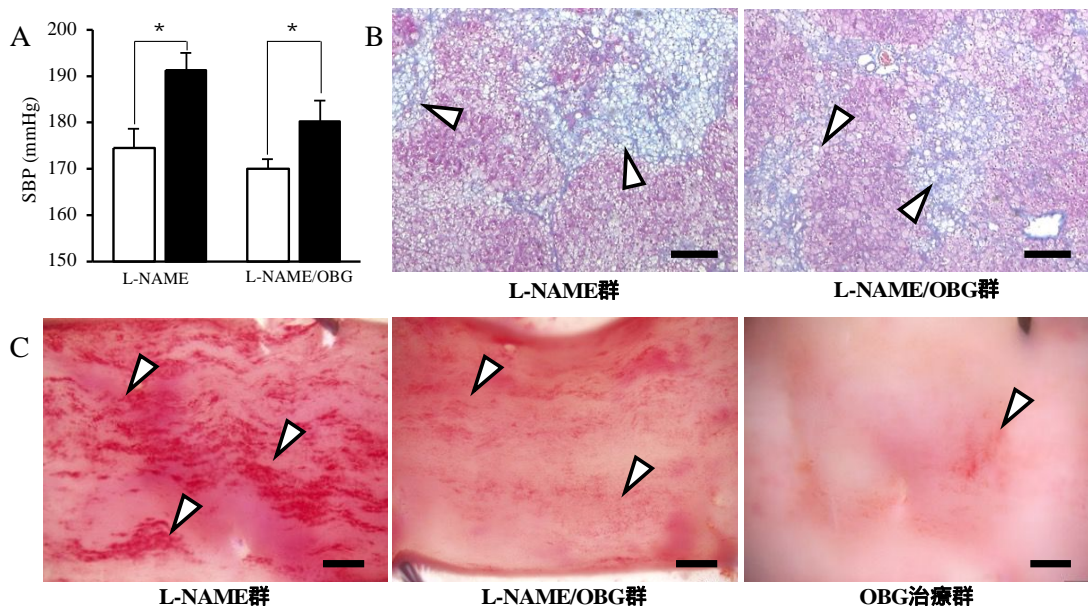


図3. L-NAME投与前後の血圧(SBP)変動(A), 肝臓のマッソントリクローム染色像(B), および腹部大動脈のオイルレッドO染色像(C)  
 白はL-NAME投与前, 黒は投与後のSBPを表す(A)。p < 0.05を有意差ありと判定した。  
 矢頭は、線維化領域(B)と脂質沈着部分(C)を示す。Scale barは200 μm(B), 500 μm(C)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ryoko Shinohata, Yuhei Shiga, Shin-Ichiro Miura, Satoshi Hirohata, Misako Shibakura, Tomoe Ueno-Iio, Shogo Watanabe, Yujiro Arao, Shinichi Usui	4. 巻 510
2. 論文標題 Low plasma apolipoprotein E-rich high-density lipoprotein levels in patients with metabolic syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 531-536
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Watanabe, S. Kumazaki, S. Yamamoto, I Sato, K. Kitamori, M. Mori, Y. Yamori, S. Hirohata	4. 巻 99(6)
2. 論文標題 Non-alcoholic steatohepatitis aggravates nitric oxide synthase inhibition-induced arteriosclerosis in SHRSP5/Dmcr rat model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Experimental Pathology	6. 最初と最後の頁 282-294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shota Kumazaki, Mayu Nakamura, Shun Sasaki, Rina Tagashira, Nozomi Maruyama, Ikumi Sato, Shusei Yamamoto, Shang Ran, Shinichi Usui, Ryoko Shinohata, Takashi Ohtsuki, Satoshi Hirohata, Kazuya Kitamori, Mari Mori, Yukio Yamori, Shogo Watanabe	4. 巻 9(4)
2. 論文標題 Bile acid metabolism is an intermediary factor between non-alcoholic steatohepatitis and ischemic heart disease in SHRSP5/Dmcr rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Nutrition and Food Sciences	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 Shusei Yamamoto, Ikumi Sato, Natsuki Fukuhama, Natsumi Akiyama, Miku Sakai, Shota Kumazaki, Shang Ran, Satoshi Hirohata, Kazuya Kitamori, Yukio Yamori, Shogo Watanabe	4. 巻 in press
2. 論文標題 Bile acids aggravate nonalcoholic steatohepatitis and cardiovascular disease in SHRSP5/Dmcr rat model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental and Molecular Pathology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Shogo, Kumazaki Shota, Yamamoto Shusei, Sato Ikumi, Kitamori Kazuya, Mori Mari, Yamori Yukio, Hirohata Satoshi	4. 巻 99
2. 論文標題 Non-alcoholic steatohepatitis aggravates nitric oxide synthase inhibition-induced arteriosclerosis in SHRSP5/Dmcr rat model	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Experimental Pathology	6. 最初と最後の頁 282 ~ 294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iep.12301	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Ikumi Sato, Shogo Watanabe etc
2. 発表標題 OBETICHOLIC ACID AMELIORATES NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS AND ATHEROSCLEROSIS IN SHRSP5/DMCR RATS
3. 学会等名 88th EAS (国際学会)
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 Shusei Yamamoto, Shogo Watanabe etc
2. 発表標題 THE NOVEL LIVER X RECEPTOR BETA AGONIST, OUABAGENIN, PREVENT ARTERIAL LIPID DEPOSITION IN SHRSP5/DMCR RAT
3. 学会等名 88th EAS (国際学会)
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 山元修成、渡辺彰吾 他
2. 発表標題 新規LXR アゴニストであるウアバゲニンを用いた動脈脂質沈着に対する改善効果の検討
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 佐藤 生弥、山元 修成、熊崎 章太、福濱 那月、秋山 菜摘、酒井 美玖、 Shang Ran、廣畑 聡、渡辺 彰吾
2. 発表標題 非アルコール性脂肪肝炎と心血管疾患を 増悪させる仲介因子としての胆汁酸の役割
3. 学会等名 日本動脈硬化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shusei Yamamoto, Ikumi Satoh, Natsumi Akiyama, Miku Sakai, Natsuki Fukuhama, Shang Ran, Satoshi Hirohata, Shogo Watanabe
2. 発表標題 Bile acid metabolism mediates between nonalcoholic steatohepatitis and cardiovascular disease
3. 学会等名 ICoLA2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ikumi Satoh, Shusei Yamamoto, Natsuki Fukuhama, Natsumi Akiyama, Miku Sakai, Shota Kumazaki, Satoshi Hirohata, Shogo Watanabe
2. 発表標題 Bile acids aggravate non-alcoholic steatohepatitis and cardiovascular disease in SHRSP5/Dmcr
3. 学会等名 ICoLA2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山元 修成, 佐藤 生弥, 熊崎 章太, 秋山 菜摘, 酒井 美玖, 福濱 那月, Shang Ran, 廣畑 聡, 渡辺 彰吾
2. 発表標題 非アルコール性脂肪肝炎において心血管疾患を増悪する仲介因子となり得る胆汁酸代謝
3. 学会等名 SHR等疾患モデル研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shogo watanabe et al
2. 発表標題 Non-alcoholic steatohepatitis aggravates myocardial infarction induced by NO synthase inhibitor
3. 学会等名 SHR symposium 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺彰吾 他
2. 発表標題 SHRSP5/Dmcrラットを用いた非アルコール性脂肪性肝炎と心血管傷害の仲介因子としての胆汁酸代謝
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺彰吾
2. 発表標題 脳梗塞易発性高血圧自然発症(SHRSP)ラットの新規亜系統として注目されるSHRSP5/Dmcrモデルの基礎病態
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会・学術集会(招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	林 由美  (HAYASHI YUMI)  (30632707)	名古屋大学・医学系研究科(保健)・講師   (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------