

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：33920

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23272

研究課題名（和文）短期高脂肪食モデルによる非アルコール性脂肪肝炎の超早期病態の解明

研究課題名（英文）Early pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis in a short-term high-fat diet model.

研究代表者

名仁澤 英里（Nanizawa, Eri）

愛知医科大学・医学部・助教

研究者番号：10879464

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：2020年度の研究により、短期間の高糖質食摂取においても、高脂肪食摂取時と同様に肝障害刺激に対する感受性が亢進していることが明らかとなった。一方で、高脂肪食と高糖質食の摂取時において、肝内に誘導される炎症・凝固状態のバランスに差があるため、短期的な食餌の変化が肝感受性の亢進に及ぼすメカニズムは両餌で異なる可能性が示唆された。2021年度は、データの再現性を検証すると共に、これらの研究成果を論文としてまとめ英文雑誌に投稿を開始した。また、短期高脂肪食モデルおよび短期高糖質食モデルの血清・肝臓中の代謝物解析を行っており、今後はいくつかの代謝物と炎症・凝固との関わりを追求していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般的に従来の研究では、長期間（2-4ヶ月）の高脂肪食や高糖質食の摂取により、脂肪肝やNASHの病態を呈した上で、病態の解析が行われてきた。しかしながら本研究では、4日間という超短期的な高脂肪食および高糖質食の摂取においても、肝臓が脆弱な状態（凝固能が亢進し、炎症の誘発が起こりやすい状態）に変化することを発見し、さらにはこの2つの食餌性因子が、異なるメカニズムによってNASH発症のリスク因子となることを立証した。この研究は病態の超早期段階に着目したものであるため、食餌による肝臓の脆弱状態を誘発するメカニズムを解明できる可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：A study in 2020 showed that short-term high-carbohydrate diet intake also increased susceptibility to hepatotoxic stimulation, as did high-fat diet intake. In 2021, the data were validated for reproducibility and the results of these studies were submitted to an international journal. We are also analysing serum and liver metabolites in short-term high-fat diet and high-carbohydrate diet models and will pursue the relationship between some metabolites and inflammation and coagulation in the future.

研究分野：肝臓学

キーワード：NASH NAFLD 高脂肪食 高糖質食 急性肝障害

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 短期間の高脂肪食摂取と非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の病態

食生活の欧米化により肥満人口の割合が増加している。それに伴い、肝硬変や肝がんなどの肝疾患へ進展していく非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の罹患率が急増しており、社会問題となっている。NASHの病態形成は、無症状である脂肪肝の状態(1st hit)に炎症刺激(2nd hit)が加わることで段階的に進行する two hit theory もしくは、それらが相互作用しながら進行する multiple parallel hit theory が提唱されている。つまり、NASHの発症は多因子的かつ慢性的な過程を経るといった特徴があり、まずはNASHへと進展していく病態の超早期段階の解析を行うことが、NASH進展の予防法の確立につながると考えられる。以前、申請者は、マウスを用いて短期間の高脂肪食摂取における、肝臓の変化の詳細な解析を行い、NASHの超早期段階の症状を呈することを立証した(Nanizawa, BB Reports., 2020)。この短期高脂肪食モデルを解析することは、NASHの超早期病態形成のメカニズムを解明するだけでなく、リスク予測のための検査や予防方法、早期診断法を確立することにつながる。

### (2) 短期間の高脂肪食摂取による凝固異常および炎症亢進

コンカナバリン A(Con A)は炎症を亢進させることにより、肝臓において凝固異常をきたし、肝臓の毛細血管である類洞において微小血栓を好発させることで、広範な肝壊死を引き起こす。申請者は、短期間の高脂肪食摂取においても、肝内の凝固亢進(フィブリノーゲンの沈着)が誘導されることを立証すると同時に、Con A(2nd hit)により深刻な肝障害が誘導されることを報告している。この現象は、NASHの病態進展が短期間の高脂肪食摂取による肝臓の凝固異常および炎症亢進状態と深く関与していることを示唆している。

## 2. 研究の目的

本研究は、短期間の高脂肪食摂取が、肝臓での凝固能を亢進し、炎症を誘発するメカニズムを解明することを目的とした。これまでの知見から、申請者は、高脂肪食摂取による肝臓の代謝物の変化が、凝固異常および炎症亢進に関与している可能性が高いと考えた。申請当時、短期間の高脂肪食摂取により変化する代謝物に着目し、質量分析法を用いて、試験的に本モデルにおける肝臓と血清中の代謝物の測定を行っていた。その実験から、通常食摂取モデルと比較して有意な増減を示す代謝物をいくつか同定しており、それが凝固異常および、炎症亢進を誘発する鍵になると予想していた。本研究の遂行により、食餌による代謝物の変化が、肝疾患の発症に与えるメカニズムを解明できると考えた。

## 3. 研究の方法

### (1) 食餌の摂取方法(種類・期間)による肝臓の変化および代謝物の解析

既に確立している短期高脂肪食モデルに加えて、同じく肥満の原因となる高糖食を与えたモデルの解析することで、食餌の種類が肝臓に与える影響を明確にする。高糖質食モデルに対する具体的な解析方法は以下の通りである。類洞内のフィブリノーゲンの沈着を評価するために肝組織の免疫染色を行う。肝細胞内の脂肪滴の検出を行うためにオイルレッドO染色を行う。

炎症に対する肝臓の感受性評価のためにCon Aを投与し、投与後の肝病態を生化学検査や遺伝子解析を用いて評価する。肝臓および血液の代謝物の変化を調べるために、質量分析法による測定を行う。

### (2) 代謝物と凝固異常・炎症亢進との因果関係の解明

上記の実験により、候補に挙げた代謝物を対象とし、候補代謝物の投与(過剰)、もしくはブロッキング(除去)により、凝固・炎症への関与を解明する。これにより、血中における代謝物の変化から、早期診断および予防をすることを可能にする候補代謝物を同定する。

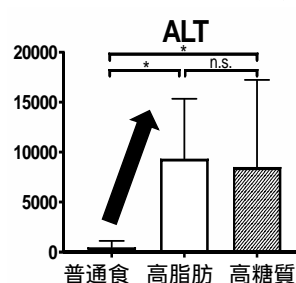
## 4. 研究成果

### (1) 高糖質食モデルの解析

短期間の高糖質食の給餌により、高脂肪食と同様にCon Aに対する肝臓の感受性が亢進することを明らかにした。しかしながら、肝臓の病理学的評価およびCon A投与後の遺伝子解析の結果より、高脂肪食と高糖質食は異なるメカニズムにより肝臓にストレス状態を誘導している可能性を見出した。研究データは、両餌共に凝固と炎症を介してCon Aに対する感受性を亢進しているが、そのバランスが異なることを示唆しており、高脂肪食は凝固優位、高糖質食は炎症優位に働いていると推察された。これらの結果は2022年にNutrition誌に掲載された。

### (2) 短期高脂肪食モデルと短期高糖質食モデルの代謝物解析

Con Aによる肝障害の重症度



現在、2つのモデルの肝臓および血液を用いて、質量分析法を用いた代謝物の網羅的な解析を行なっている。短期高脂肪食モデルの血液において、食餌日数に相関して有意に増加する脂肪酸を発見しており、この成分と肝臓の凝固・炎症との関連性を代謝物のプロッキングを行うことで明らかにする実験を行なっている。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Eri Nanizawa, Shun Otsuka, Naoyuki Hatayama, Yuki Tamaki, Yumi Hayashi, Tetsuya Ishikawa, Shuichi Hirai, Munekazu Naito	4. 巻 101
2. 論文標題 Short-term high-fat and high-carbohydrate diets increase susceptibility to liver injury by inducing hepatic procoagulant and proinflammatory conditions with different balances	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrition	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nut.2022.111710.	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 名仁澤英里、大塚俊、畑山直之、玉置優貴、林由美、石川哲也、平井宗一、内藤宗和
2. 発表標題 短期間の高脂肪食および高糖質食負荷マウスにおける肝障害重症化機序の解析
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------