

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870066

研究課題名(和文) 肝臓における神経支配の変化と代謝機能の関連性の解明

研究課題名(英文) The relationship between changes of innervation and metabolic function of the liver

研究代表者

水野 恵 (Mizuno, Kei)

山形大学・医学部・医員

研究者番号：00715394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ヒト肝内自律神経線維と代謝との関係を解明することを目的として、正常肝、ウイルス性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)における肝内の全神経線維と交感神経線維の量を検討した。

肝疾患では正常肝と比較して、全神経線維・交感神経線維ともに減少していた。ALTが高値の群、線維化が進行した群では、神経線維が減少する傾向にあった。血糖や脂質の値による比較では、神経線維量に明らかな差はなかった。

糖代謝や脂質代謝との明らかな関連を示唆する根拠は得られなかったが、肝疾患においては肝内自律神経線維が減少しており、何らかの傷害を受けていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)： In this study, we examined liver innervation in order to elucidate the relationship between the autonomic nerve fiber in the human liver and metabolism.

Both of whole nerve fiber and sympathetic nerve fiber were more decreased in the liver with hepatitis than in the normal liver. Nerve fibers tended to decrease in the group with high serum ALT and the group with advanced fibrosis.

There was no evidence to suggest an association between liver innervation and glucose metabolism or lipid metabolism. However, intrahepatic autonomic nerve fibers decreased in liver diseases, suggesting that they suffered some kind of injuries.

研究分野：消化器内科学

キーワード：肝内自律神経

1. 研究開始当初の背景

消化器系の分野において、消化管と自律神経系との関連については古くからよく取り上げられている。しかし、肝内にも自律神経枝が存在していることや、その役割についてはあまり知られていない。

肝臓は交感神経と副交感神経の両方の自律神経の支配を受けている。自律神経線維は肝門部から肝内に入り、門脈域に沿って分布し、一部は小葉内に至る。遠心性線維は、血流量、胆汁分泌、代謝などの調節を行っていると考えられる。例えば、交感神経遠心性線維の刺激により、肝ではグリコーゲン分解や糖新生が促進され、血糖が上昇する。副交感神経遠心性線維の刺激では、逆にグリコーゲン合成が促進する。求心性線維は、肝内の浸透圧、糖や脂質の濃度などの情報を脳に伝達し、フィードバック機構が働くと考えられている。

肝移植の際に、血管や胆管は吻合されるのに対して、自律神経は切断されたままの状態となる。このため移植肝は神経支配の無い状態であるが、通常はレシピエントの体内で問題なく機能している。しかし、肝移植後のレシピエントではメタボリックシンドロームの合併が多いことが報告されており、脱神経支配による代謝調節の不具合が関与している可能性がある。

肝星細胞は、肝傷害時に活性化され、膠原線維を産生する筋線維芽細胞様の形態を呈する。肝星細胞にはアドレナリン受容体が発現しており、自律神経支配を受けていることが示唆される。このことから、肝内自律神経線維は、肝線維化にも関わっていると考えられる。

肝臓におけるメタボリックシンドロームの表現型として、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) が近年注目されている。病理学的には脂肪沈着や肝細胞の風船様変性が見られるが、これまでに肝内自律神経線維の詳細な評価はされていない。また、薬物治療の進歩が著しいものの、いまだ多くの患者が罹患しているウイルス性肝炎についても、肝内自律神経線維に関する十分な検討はされていない。これらの慢性肝疾患における自律神経線維の変化を評価し、肝内自律神経線維と代謝性疾患との関連のみでなく、線維化や慢性炎症の進展との関連を明らかにすることが、新たな治療戦略につながる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、慢性肝疾患における肝内自律神経線維の変化を明らかにすることを目的とする。慢性肝疾患の中でも、ウイルス性慢性肝炎と代謝性疾患である NASH での肝内自律神経線維の量を、正常肝と比較することで、疾患による神経線維への影響と、その臨床的意義の解明を目指す。

3. 研究の方法

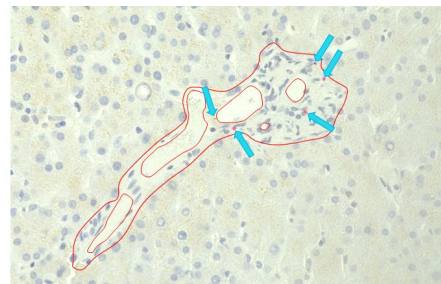
肝移植後の神経線維の評価

肝移植後の自律神経線維の変化について検討するため、肝移植を施行された 49 例の肝組織を用いた。抗 PGP9.5 抗体と同様に全神経線維のマーカーとなる抗 S100 抗体や抗神経細胞接着因子 (N-CAM) 抗体を一次抗体とした免疫組織化学染色を施行し、移植後の神経線維の変化と臨床検査値との比較を試みた。

肝疾患における神経線維の評価

当院で肝生検を施行した症例のうち、正常肝と診断された 5 例、C 型慢性肝炎 10 例、NASH 10 例の生検標本を用いた。自律神経線維の同定のため、全神経マーカーとして抗 protein gene product (PGP) 9.5 抗体、交感神経マーカーとして抗チロシン水酸化酵素 (TH) 抗体を一次抗体とした免疫組織化学染色を行った。

標本ごとに、神経線維の面積 (μm^2) / (門脈域の面積 - 管腔内の面積) (μm^2) の平均を算出し、これを神経線維面積比とした (図



1)。

図 1. 門脈域の神経線維

(1) 疾患別の肝内神経線維の検討

正常肝と肝疾患 (NASH + ウイルス性肝炎)、正常肝と C 型慢性肝炎、NASH と C 型慢性肝炎、正常肝と NASH で、それぞれ全神経線維と交感神経線維において神経線維面積比を比較した。

(2) 臨床検査値別の肝内神経線維の検討

肝線維化の指標として、Mac-2 結合蛋白糖鎖修飾異性体 (M2BPGi)、FIB4 index などが知られている。本研究では、肝生検時に血清を保存していた 19 例で M2BPGi を測定し、M2BPGi < 1 と > 1 の 2 群に分けて、全神経線維面積比と交感神経面積比を比較した。し FIB4 index は < 2.67 と > 2.67、血小板数は > 20 万/ μl と < 20 万/ μl の 2 群でそれぞれ検討した。

炎症の指標としては ALT を用いた。ALT < 100 U/l と > 100 U/l に分け、全神経面積比および交感神経面積比を比較した。

代謝機能のマーカーとして、空腹時血糖、HbA1c、中性脂肪、総コレステロールについても、高い群と低い群に分けて検討した。

4. 研究成果

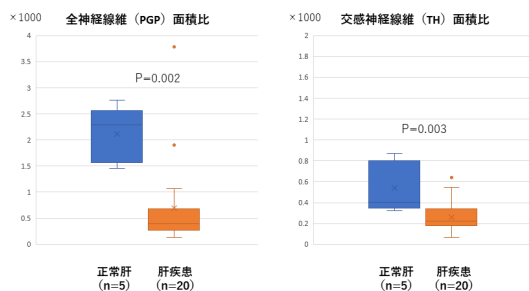
肝移植後の神経線維の変化

49例の移植後肝標本のうち、複数時点の組織を得られているのは22例であり、27例は1回の肝生検のみであった。移植から組織検査までの期間は、最短で8日から最長で15年と症例により大きく異なっていた。複数回生検をされている症例の中でも、生検時期にばらつきと偏りが大きかった。このため、移植後の神経支配の変化と臨床検査値とを比較して、移植後の代謝への神経支配の影響を検討するという事は、困難であった。

移植後早期には神経線維が見られるものの、数か月の時点で生検された症例では神経線維を検出しにくくなっており、更に数年～十数年経過した症例では神経線維を認めやすくなっている傾向が見られた。移植後早期にはドナーの神経線維が残存しているが、その後これが脱落し、レシピエントの自律神経線維による神経支配が確立してくると考えられており、これに矛盾しないと考えられた。

(1) 疾患別の肝内神経線維の検討

NASHとC型肝炎を併せた肝疾患群では、正常肝と比較して有意に全神経線維・交感神経線維とも減少していた(図2)。C型肝炎単独と正常肝の比較では有意差をもって、NASH単独と正常肝の比較では有意差はなかったが、それぞれ肝疾患を有する方が正常肝よりも神経線維が減少する傾向にあった。C型肝炎とNASHの比較では、全神経線維・交感神経線維ともに有意な差を認めなかつ



た。

図2. 正常肝と肝疾患の神経面積比

(2) 臨床検査値別の肝内神経線維の検討

肝線維化マーカーのM2BPGi <1と>1の2群に分けて比較すると、>1の線維化進展例において、神経線維は減少する傾向にあった。全神経線維では有意差を認めなかったものの、交感神経は有意に減少していた(図3)。また、血小板は>20万/μlと<20万/μlに分けて評価したところ、同様に全神経線維では有意差がないものの、交感神経線維は有意に線維化進展例で減少していた。FIB4 indexにおいても、やはり線維化の進んだFIB4

index > 2.67の群で有意に交感神経線維の減少を認めた。

炎症の程度はALTで評価し、ALT < 100 U/lと> 100 U/lの2群で比較した。ALTが高値の群で全神経線維が減少していたが、交感神経線維のみでは有意な差を認めなかった(図4)。

糖関連のマーカーとして空腹時血糖とHbA1c、脂質関連のマーカーとして中性脂肪と総コレステロールを用い、それぞれ正常群と高値群との神経面積比を比較した結果、明らかな差を認めなかった。今回の検討では異常値を示す症例が少数であったため、更に症例を増やして検討する必要があると考えられる。

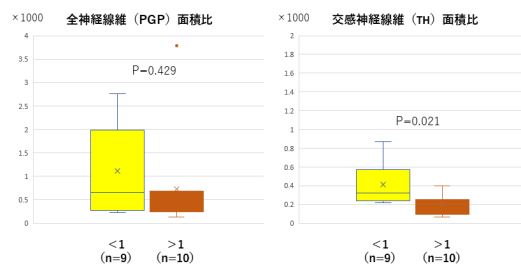


図3. M2BPGi別の神経面積比

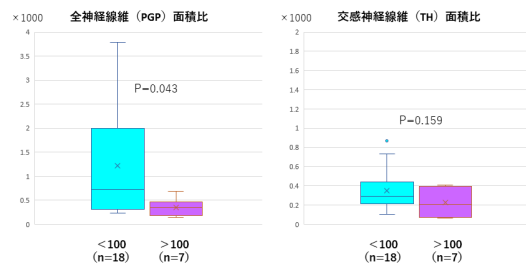


図4. ALT別の神経面積比

以上より、NASHやC型肝炎といった慢性肝疾患では神経線維が減少し、線維化の進行により特に交感神経線維が有意に減少していることが示された。また、炎症が強い症例では、全神経線維が有意に減少するが、交感神経線維は減少による変化が乏しい傾向にあった。このことから、慢性肝疾患の病態に、肝内神経支配が関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

1. Mizuno K, Ueno Y. Autonomic Nervous System and the Liver. Hepatol Res. 2017 Feb;47(2):160-165. DOI: 10.1111/hepr.12760. (査読有)

[学会発表](計5件)

1. 水野 恵, 芳賀 弘明, 仁科 武人, 奥本 和夫, 齋藤 貴史, 上野 義之: 門脈域自律神経支配の臨床的意義の検討. 第 52 回日本肝臓学会総会, 東京ベイ幕張ホール (千葉市) :2016 年 5 月 19 日

2. Mizuno K, Murakami K, Kawagishi N, Ueno Y: Intrahepatic Neurons: Changes after Liver Transplantation, and their Associations with a variety of Liver Diseases Transplantation, and their Associations with a variety of Liver Diseases. The 24th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of Liver (APASL), Istanbul, Turkey ; 2015 年 3 月 13 日

3. 水野 恵, 村上圭吾, 勝見智大, 佐藤智佳子, 奥本和夫, 渡辺久剛, 齋藤貴史, 川岸直樹, 上野義之: 肝疾患における門脈域自律神経線維支配. 第 51 回日本肝臓学会総会, 熊本ホテルキャッスル (熊本市) ; 2015 年 5 月 21 日

4. Mizuno K, Murakami K, Katsumi T, Tomita K, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Kawagishi N, Ueno Y. Intrahepatic Neurons: Chronological Changes after Liver Transplantation, and their Associations with Liver Diseases. AASLD annual meeting, Boston, USA ; 2014 年 11 月 9 日

5. 水野 恵, 村上圭吾, 上野義之: メタボリックハイウェイにおける肝臓内自律神経と病態: 肝移植後と各種肝疾患の病理学的検討. 第 18 回日本肝臓学会大会 (ワークショップ), 神戸国際会議場 (神戸市) ; 2014 年 10 月 25 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水野 恵 (MIZUNO, Kei)

山形大学・医学部・医員

研究者番号: 00715394