

令和 3 年 10 月 19 日現在

機関番号：24403

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2017～2019

課題番号：17KK0158

研究課題名（和文）代謝性肝疾患に合併する薬剤性肝傷害の分子メカニズム解明

研究課題名（英文）Molecular mechanisms of drug-induced liver injury based on metabolic liver disease

研究代表者

井澤 武史（Izawa, Takeshi）

大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：20580369

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 10,700,000円

渡航期間： 12ヶ月

研究成果の概要（和文）：非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）に合併する薬剤性肝傷害のメカニズムを調べるために、代謝異常に基づく脂肪肝を発現し、ヒトNAFLDと類似性の高い疾患モデル（DIO-NTacマウス）を用いて、アセトアミノフェン誘発肝傷害に対する感受性の変化を調べた。DIO-NTacマウスでは、対照マウスと比べて、アセトアミノフェン誘発肝傷害が軽減しており、アセトアミノフェンの肝毒性に対する感受性が低いことが示された。また、この肝毒性感受性の低下には、脂肪肝による薬物代謝酵素の変動が関わる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、近年問題視される非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）に合併する薬剤性肝傷害のメカニズム解明を試みた。国内のNAFLD患者は成人の20～30%と考えられており、また患者の多くは医薬品を継続的に服用する必要があることから、本研究で得られたデータが、NAFLD患者に対する治療や医薬品開発の一助となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The present study investigated the change in susceptibility to acetaminophen-induced liver injury in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD; DIO-NTac mouse), developing diet-induced fatty liver with obesity and altered glucose tolerance. Liver injury induced by an acetaminophen administration was reduced in DIO-NTac mice compared with control mice, suggesting a decreased susceptibility to acetaminophen hepatotoxicity in this mouse model. The decreased susceptibility was shown to be associated with alteration of xenobiotic enzymes by fatty liver.

研究分野：毒性病理学

キーワード：脂肪肝 代謝性肝疾患 薬剤性肝傷害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease; NAFLD) は、肥満、糖尿病、脂質異常症あるいは高血圧などのメタボリックシンドロームに基づく代謝性肝疾患で、世界の成人の約 25%が罹患する現代病である。近年、NAFLD 患者では、薬物代謝能の変質によって、医薬品に対して健常人ではみられない重篤な肝毒性が起こる、すなわち薬剤性肝傷害 (drug-induced liver injury; DILI) が重篤化するリスクが高いことが明らかになりつつある (Gastroenterology.2016,151:1046-51)。また、NAFLD 患者の多くは脂質異常症や高血圧などの基礎疾患を持つことから、医薬品を服用する頻度が健常人よりも高い。よって、NAFLD 患者は、内因的要因 (薬剤感受性) および外因的要因 (服用頻度) 双方の観点から、薬剤性肝傷害のリスクが高いことが予想される。しかしながら、NAFLD に合併する薬剤性肝傷害のメカニズムには未だ不明点が多い。我が国でも成人の 20~30%が NAFLD に罹患していると考えられていることから、薬剤性肝傷害の併発メカニズムは解明すべき重要な社会問題といえる。

2. 研究の目的

本研究では、医薬品の毒性学研究の先端研究機関である米国国立環境衛生科学研究所 (National Institute of Environmental Health Sciences; NIEHS) の高度な専門性と研究設備を活用し、NAFLD と薬剤性肝傷害を併発するモデル動物を作製し、その病態解析を行うことで、NAFLD に合併する薬剤性肝傷害の分子メカニズムの解明を試みた。

3. 研究の方法

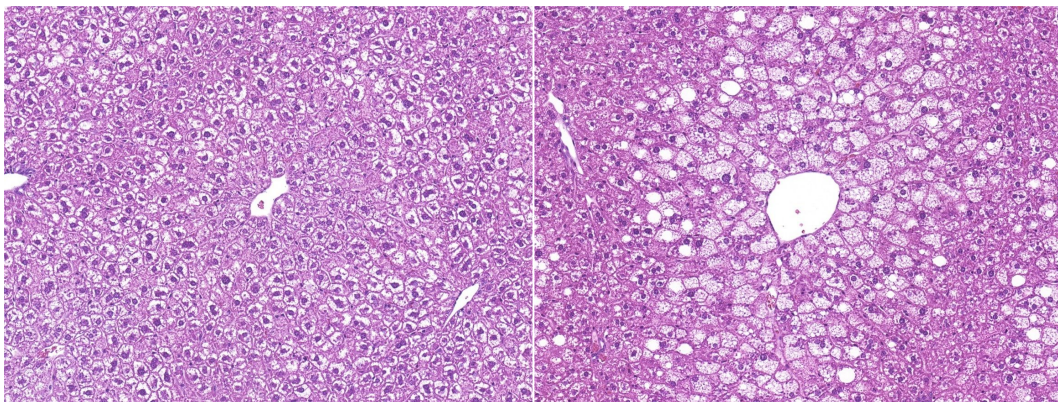
(1) はじめに、ヒトの非アルコール性肝疾患 (NAFLD) の病態を再現できる疾患モデル動物を得るために、通常のマウス系統よりも高脂肪食に対する感受性が高いことが報告されている C57BL/6NTac 系統マウス (6 週齢, 雄; <https://www.taconic.com/mouse-model/diet-induced-obese-dio-b6>) に対して、総カロリー 60% が脂質由来となるように配合された高脂肪食 (リサーチダイエツ社製 D12492) を最長 23 週間連続給餌し、その病態を解析した (NTac-D10 マウス)。対照群として、同系統のマウスにコントロール食 (リサーチダイエツ社製 D12450J) を給餌した。

(2) 続いて、作製した NTac-D10 マウスにおいて、薬剤性肝傷害に対する感受性がどのように変化するかを調べるために、18 週齢雄の NTac-D10 マウスおよび対照マウスに肝毒性量 (150 mg/kg) のアセトアミノフェンを強制単回経口投与し、投与後 24 時間から 72 時間に病態を解析した。

(3) さらに、通常の F344 系統ラット (6 週例, 雄) に高脂肪食を最長 30 週間給餌したモデル (F344-D10 ラット) を用いて、トランスクリプトーム解析を用いて病態進展に伴う薬物代謝関連遺伝子の変動を調べた。

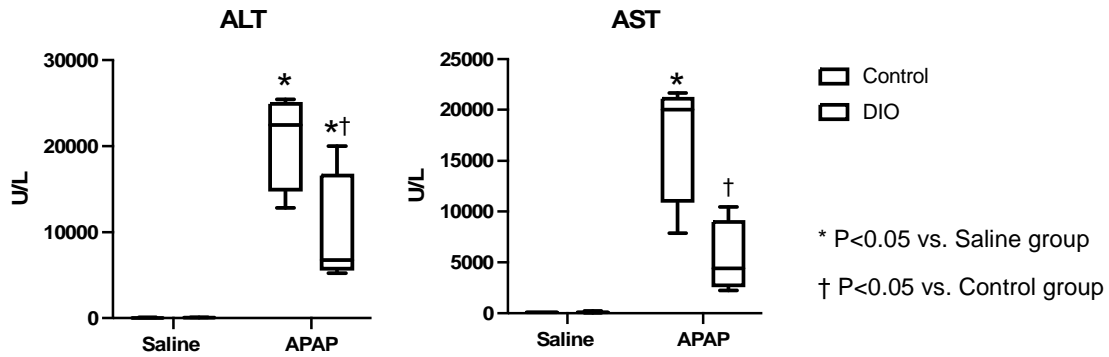
4. 研究成果

(1) 作製された NTac-D10 マウスは、対照マウスと比べて、給餌開始後 12 週から肥満 (体重増加および皮下脂肪・内臓脂肪の増加)、耐糖能異常 (glucose tolerance 異常)、高インスリン血症および高レプチン血症がみられ、顕著なメタボリックシンドロームを発現することが示された。また、肝重量の増加および組織学的な肝細胞の小葉中心性脂肪化がびまん性に認められた。給餌開始後 29 週では、組織学的な肝細胞脂肪化はより広範に拡大していた。以上より、NTac-D10 マウスモデルは代謝異常に基づく脂肪肝を発現しており、ヒト NAFLD と高い類似性を有することが示された。

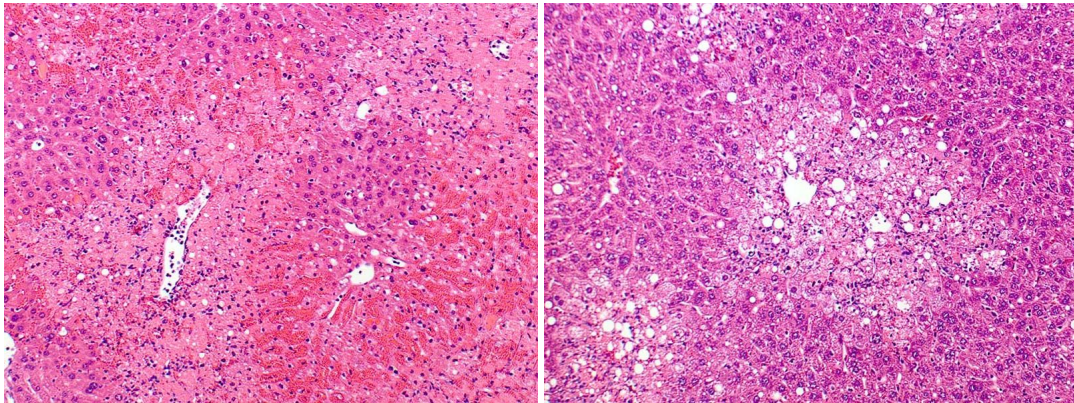


肝臓の HE 染色像 (左; 対照マウス, 右; NTac-D10 マウス)

(2) NTac-D10 マウスでは、対照マウスと比べて、血清中の肝逸脱酵素値 (AST, ALT) が低下し、組織学的な肝細胞壊死も軽減傾向が認められた。よって、NTac-D10 マウスでは、アセトアミノフェン誘発肝傷害が軽減する可能性が示された。



アセトアミノフェン投与後 24 時間の血清肝逸脱酵素の変化



アセトアミノフェン投与後 24 時間の肝臓 HE 染色像 (左; 対照マウス, 右; NTac-DIO マウス)

また、この NTac-DIO マウスの肝臓では、アセトアミノフェンの代謝に関わる *Ugt1a9* mRNA および *Sult1a1* mRNA の発現低下、*Abcc4* mRNA の発現上昇が認められ、NTac-DIO マウスではアセトアミノフェンの薬物代謝が変質している可能性が考えられた。

以上より、ヒト NAFLD と高い類似性を示す NTac-DIO マウスでは、アセトアミノフェンの肝毒性感受性が低下しており、そのメカニズムとして薬物代謝能の変質が疑われた。

(3) F344-DIO ラットでは、単純性脂肪肝から肝傷害や炎症を伴う脂肪性肝炎への病態進展が経時的に認められる。この病態進展に伴って、F344-DIO ラットの肝臓では、5 種の P450 遺伝子 (*Cyp2a3*, *Cyp2c24*, *Cyp4a8*, *Cyp7b1*, *Cyp26c1*) が発現上昇し、25 種の P450 遺伝子 (*Cyp1a2*, *Cyp2b2*, *Cyp2b12*, *Cyp2c6*, *Cyp2c7*, *Cyp2c11*, *Cyp2c12*, *Cyp2c13*, *Cyp2c23*, *Cyp2f4*, *Cyp2g1*, *Cyp2r1*, *Cyp2s1*, *Cyp3a2*, *Cyp3a9*, *Cyp3a18*, *Cyp3a73*, *Cyp4a1*, *Cyp4a3*, *Cyp4f39*, *Cyp4f40*, *Cyp7a1*, *Cyp17a1*, *Cyp26a1*, *Cyp26b1*) が発現低下していた。また、単純性脂肪肝および脂肪性肝炎のいずれのステージにおいても、F344-DIO の肝臓において、NTac-DIO マウスと同じく *Ugt1a9* mRNA および *Sult1a1* mRNA の発現低下と *Abcc4* mRNA の発現上昇が認められた。

以上より、F344-DIO ラットでは、脂肪肝から脂肪性肝炎への進展に伴って、薬物代謝能が変質する可能性が示された。また、マウスモデルとラットモデルの双方において、同じアセトアミノフェン代謝酵素の変動が認められ、脂肪肝に共通する薬物代謝酵素変動が存在する可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Izawa, T., Cortes, R., Gadupudi, G., Ramesh, K., Clayton, N., Herbert, R., Wilson, R., Brar, S., Cora, M., Travlos, G., Flagler, N., Sills, R., Pandiri, A
2. 発表標題 Altered susceptibility to acetaminophen-induced liver injury in mouse model of nonalcoholic fatty liver disease
3. 学会等名 STP (Society of Toxicologic Pathology) 38th Annual Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	パンディリ アルーン (Pandiri Arun)	米国国立環境衛生科学研究所・Molecular Pathology Group・Group Leader	

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