

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15809

研究課題名（和文）NASHにおける中鎖脂肪酸の治療応用と分子標的治療につながる関連遺伝子の検索

研究課題名（英文）The treatment applicability of the middle chain fatty acid and the related gene leads to molecular target in NASH

研究代表者

古屋 信二（Furuya, Shinji）

山梨大学・大学院総合研究部・特任助教

研究者番号：80622381

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：複数NAFLD/NASHマウスモデルにて病態的特徴を比較検討した。肝障害はマウスモデル、HFD、db/db、MCD、STAMの順に強くなり、STAMマウスは肝腫瘍を認めた。MCT混餌投与によるNAFLD/NASH改善効果を検証し、HFDにMCTを加えた群では優位にNASHの予防効果を認めた。しかしMCDでは障害が高度であり、抑制効果は得られなかった。次世代シーケンスを用いて、トランスクリプトーム解析を行い、関連遺伝子とPathwayの同定を行なった。炎症性サイトカインや脂肪生成・分解の経路に変化を認め、複数関連遺伝子mRNAとmiRNAの候補を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究を通して脂質代謝の観点から分子標的薬の開発につながる関連分子候補を特定した。それらの分子候補を用いて、将来増加が推測されているメタボリック症候群を介した肝障害や肝発癌の抑制する治療体系の確立を今後は行う方針である。本研究は、担NAFLD/NASH患者の全身性に制御する進展形成の新たなメカニズムの解明に繋がる可能性を有し、今回同定された関連分子は、実地臨床における個別化バイオマーカーとしても有用である可能性を有し、NAFLD/NASH患者に対して極めて大きな福音となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We compared the pathological features in multiple NAFLD/NASH mouse models. Liver damage became stronger in the order of mouse model, HFD, db/db, MCD, and STAM, and STAM mice which showed liver tumor. The NAFLD/NASH improvement effect of the MCT diet administration was verified, and the preventive effect of NASH was predominantly observed in the group where MCT was added to HFD. However, MCD was severely impaired, and no inhibitory effect was obtained. Transcriptome analysis was performed using the next-generation sequence to identify related genes and pathways. We identified changes in inflammatory cytokines and adipogenesis/degradation pathways, and identified candidates for multiple related genes mRNA and miRNA.

研究分野：NASH

キーワード：NASH NAFLD マウス 中鎖脂肪酸

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障害/肝炎 (NAFLD/NASH) は 90 年代後半より認識されるようになった疾患群で、発症原因にアルコールが関係せずアルコール性肝障害に類似した進展を示すとされている。また、近年ではメタボリックシンドロームの増加により、NAFLD/NASH を背景とした肝細胞癌の罹患率が増加しており、その病態を解明することは極めて重要である。

NAFLD/NASH の発生機序は未だ十分に解明されていないが、その病態進行に伴い、肝臓における M2 マクロファージの減少と M1 炎症性マクロファージの増加に伴う炎症性サイトカインの産生が亢進し、肝細胞壊死を伴う線維化が惹起されるとの報告がある (Biomed Res Int.201;984578)。一方で、これら炎症性サイトカインやマクロファージ・好中球等の炎症性細胞由来の活性酸素は、酸化ストレスの原因として知られており、これらの報告を基に、今回我々は、「脂肪肝に伴う肝内の酸化ストレスの蓄積により NAFLD/NASH ならびに肝細胞癌が発症・増悪し、これらが中鎖脂肪酸 (MCT) 投与により抑制される」との仮説を立てた。

中鎖脂肪酸 (MCT) の作用について、肝マクロファージの LPS 受容体の CD14 発現抑制による LPS 感受性低下に基づく活性化抑制を解明し、消化管と肝臓での炎症性免疫に大きく寄与する分泌型 IgA 発現増強作用についても既に当教室から報告している (Kono et al. Am. J. Physiol. 2004; 286: G1081-1089)。このように、MCT には免疫作用増強とマクロファージを中心とした炎症性細胞由来の炎症性機構抑制作用を有する事実が既に解明されている。また、MCT は、消化管からの吸収が他の脂肪酸と比較して 4 倍早く、ミセル形成なしに門脈経由で直接肝臓に運ばれ、肝細胞でケトン体に代謝される。また、炎症時の即効性のエネルギー源となることも知られており、現在この特徴を生かして経腸栄養剤に使用されている。また、最近の報告では、ケトン体食による腫瘍細胞増殖抑制効果が臨床症例で報告されている (Nutr. Metab. 2011; 8:54-58)。これらの報告から、MCT 投与によるマクロファージ由来の炎症抑制、炎症性免疫作用の増強により、肝発癌ならびに腫瘍増殖の抑制効果が期待される。

しかしながら、現時点では、全ての NAFLD/NASH の病態・因子を忠実に満たす単一の動物モデルが存在せず、病態の一部を再現できるモデルを用いた包括的かつ統合的解析が必須である。本研究課題では、複数の NAFLD/NASH の動物モデルを用いて横断的に NASH の病態と MCT 投与の効果について検討し、一方で、次世代シーケンサーを用いた網羅的解析によって、その病態ならびに MCT 投与による脂質代謝を介した同発癌・増殖抑制に関わる治療標的分子の

同定についても着手する予定である。

## 2．研究の目的

MCT 投与による NASH/NAFLD ならびに発癌抑制効果についての報告は、これまで全く行われていない検討である。また、MCT は既に実臨床として経管・経腸栄養に使用されている物質であり、本研究課題によって NASH/NAFLD ならびに肝細胞癌発癌抑制が証明された場合には、直ちに臨床に直結する蓋然性が高い。最終的には、脂質代謝の観点から分子標的薬の開発につながる関連分子を特定することで、今後ますます増加が推測されているメタボリック症候群を介した肝障害や肝発癌の抑制を目指した新たな治療体系の確立を目指す。本研究は、担 NAFLD/NASH 患者の全身性に制御する進展形成の新たなメカニズムの解明に繋がる可能性を有し、その各病期に応じた関連分子の同定は、実地臨床における個別化バイオマーカーとしても有用である。一方で、「肝炎等克服実用化研究事業」で掲げられた肝炎等克服緊急対策研究事業内の「肝炎の予防、診断、治療に係る技術の向上、肝炎医療を行う上で必要な医薬品・医療機器の開発」にも繋がる可能性を有し、NAFLD/NASH 患者に対して極めて大きな福音となると考えられる。

## 3．研究の方法

- a) 複数の NAFLD/NASH モデルを用いたそれぞれの病態特徴の比較、およびヒト NAFLD/NASH の臨床的特徴と比較検討する。
- b) 複数の NAFLD/NASH モデルを用いた MCT 混餌投与による NAFLD/NASH の改善効果を検証する。
- c) 次世代シーケンス技術を用いて、それぞれのマウスモデルの特徴を横断的にトランスクリプトーム解析にて行う。
- d) 炎症性発癌における効果も検討する目的で、DEN 誘発炎症性肝細胞癌マウスモデルと低用量ストレプトゾシン + 高脂肪食 (STAM®) マウスにおける MCT 投与効果も上記と同様に明らかにする。

## 4．研究成果

- a, b) 複数 NAFLD/NASH マウスモデルにて病態的特徴を比較検討した。肝障害はマウスモデル、

HFD、db/db、MCD、STAM の順に強くなり、STAM マウスは肝腫瘍を認めた。MCT 混餌投与による NAFLD/NASH 改善効果を検証し、HFD に MCT を加えた群では優位に NASH の予防効果を認めた。しかし MCD では障害が高度であり、抑制効果は得られなかった。

c) 次世代シーケンスを用いて、トランスクリプトーム解析を行い、関連遺伝子と Pathway の同定を行なった。炎症性サイトカインや脂肪生成・分解の経路に変化を認め、複数関連遺伝子 mRNA と miRNA の候補を同定した。

d) 炎症性発癌における効果に関してはマウスモデルより結果を集積し解説中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究発表に関しては、ESALとAASLDに予定していたが、COVID19感染の拡大のため、渡航は危険と判断して演題を取り下げた。

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