

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 14 日現在

機関番号：35409

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20700596

研究課題名 (和文) C 型慢性肝疾患の亜鉛および多価不飽和脂肪酸による病態進展抑制効果に関する研究

研究課題名 (英文) Effect of zinc and polyunsaturated fatty acid on chronic hepatitis C

研究代表者

村上 泰子 (MURAKAMI YASUKO)

福山大学・生命工学部・講師

研究者番号：90326413

研究分野：臨床栄養学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：肝線維化, 亜鉛, エイコサペンタエン酸

1. 研究計画の概要

ウイルス排除が得られない C 型慢性肝疾患、あるいはメタボリックシンドロームの肝臓での表現型として今後、罹患者数の増大が懸念される非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に対しては肝硬変、肝臓への進展を阻止することが治療の最大の目的であり、治療効果の向上は本邦における重要課題である。我々はこれまでの臨床研究、動物実験により、亜鉛や抗酸化ビタミンによる抗酸化栄養療法および n-3 系脂質の病態進展の抑制、改善への有用性を確認してきた。本研究の目的は動物モデルあるいは肝星細胞を用いた実験により、亜鉛やエイコサペンタエン酸 (EPA) 補充が肝障害、肝線維化、抗酸化系に及ぼす影響を検討することである。さらに、その有用性を確認したうえで、臨床試験への応用を試みることである。研究計画は以下の通り。

(1) 低亜鉛食摂餌ラットにおける亜鉛および魚油補充、薬剤性肝障害が抗酸化系に及ぼす影響：低亜鉛摂餌ラットにジメチルニトロサミン (DMN, 30mg/kg BW, 3 times/week) を 2 週間投与し肝線維化を誘発させ、低亜鉛食、低亜鉛-高 EPA 食、高亜鉛食、高亜鉛-高 EPA 食の影響を検討する。

(2) 株化肝星細胞に及ぼす亜鉛動態の影響：ヒト株化肝星細胞 (HSC) (L190 細胞) およびラットより分離した HSC において亜鉛キレート剤 (DTPA または TPEN) 200 μ M と硫酸亜鉛を単独あるいは同時添加して培養し、肝星細胞の活性化に及ぼす影響を検討する。

(3) 慢性肝疾患モデルに対する亜鉛および EPA 補充の効果：コリン欠乏高脂肪 (CDHF) 食を 4 週間摂食させたラットに対し、その後

6 週間の亜硝酸ナトリウム投与

(30mg/kg/day) を行い、肝炎・肝線維化を誘発させる。この間の亜鉛、EPA 補給の違いが各指標に与える影響を検討する。

(4) NASH 患者への抗酸化ビタミンおよび EPA 補給の効果：NASH 患者に抗酸化ビタミン (ビタミン E: 300mg/day, ビタミン C: 600mg/day) および EPA (1,800 mg/day) の補充療法を行い、病態への影響を検討する。

(5) C 型慢性肝疾患患者への亜鉛および EPA 併用投与の効果：C 型慢性肝疾患患者に亜鉛および EPA 併用投与を行い、病態への影響を検討する。

2. 研究の進捗状況

(1) 低亜鉛食摂餌ラットにおける薬剤性 (DMN) 肝障害では低亜鉛摂餌群において、EPA 補給は肝障害指標である血清 ALT 値の減少 ($P<0.1$) および、血清 SOD 活性の維持 ($P<0.05$) に関与していた。亜鉛補給による明らかな差異は認められなかった。活性化伊東細胞に特異的に発現される α SMA タンパク質のイムノブローディング陽性バンドのシグナルは低亜鉛食 > コントロール食 > 高亜鉛食の傾向がみられた。

(2) ラットより分離した HSC では非膜透過性亜鉛キレート剤である DTPA 存在下で活性型タンパク質分解酵素 Matrix Metalloproteinase (MMP-9) の出現が観察され、亜鉛濃度が ECM 分解系に影響を及ぼすことが示唆された。MMP-9 は基底膜の IV 型コラーゲンを主な基質として働き、炎症時における ECM リモデリング、細胞浸潤などにも関与することから、亜鉛欠乏状態が肝線維化において HSC による基底膜コラーゲンの分解や遊走性を高めることで障害部位へ

の移動及び HSC の分散を引き起こす可能性が考察された。

(3) 慢性肝疾患モデルに対する亜鉛補充では血清 ALT 値は亜鉛補充群で低値傾向を示した。今後、酸化ストレス指標、肝線維化指標、線維化関連遺伝子の発現レベルなどの項目について詳細な解析を進めるとともに、EPA 補充を本実験モデルにおいて実施し、さらなる検討を行う。

(4) NASH 患者を食事指導 (Diet 群)、抗酸化ビタミン投与 (Vit 群)、抗酸化ビタミン + EPA 投与 (EPA 群) に割り付け、治療開始時と 3 ヶ月後で比較検討を行ったところ、血清 AST, ALT 値は Vit 群で低下傾向を示した。TNF- α は Vit 群で低下傾向を示したが、他の群では変化は見られなかった。結果から、NASH 患者において長期的に適正体重を目指した減量、特に体脂肪率の減少は重要と考えられた。

(5) C 型慢性肝疾患患者への亜鉛および EPA 併用投与の効果：このテーマについては (3) の動物試験の結果を見極めつつ、計画中である。

3. 現在までの達成度

□やや遅れている。

テーマ (3) 「慢性肝疾患モデルに対する亜鉛および EPA 補充の効果」については、実行性の観点から当初の計画を変更し、亜鉛補充と EPA 補充を分けて試験を実施した。飼育期間が 10 週間と比較的長期であり、現在、飼育を完了し、遺伝子発現レベル等の詳細な評価はこれからとなる。

4. 今後の研究の推進方策

評価の遅れているテーマ (3) について、早急に結果を解析し、また EPA 補充の効果についても並行して検討を進める。

5. 代表的な研究成果

(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)

川上貴代, 村上泰子, 富岡加代子, 沖田美佐子. 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) 患者における食事療法と抗酸化ビタミンおよび EPA 投与の影響. 臨床栄養学雑誌. 31(1). 32-38. 2010. 査読有.

[学会発表] (計 1 件)

片山敬子, 村上泰子 他. 肝線維化モデルラットにおける亜鉛投与の影響. 第 63 回日本栄養・食糧学会大会. 2009 年 5 月 21 日. 長崎市