

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20790503

研究課題名（和文） 中性脂肪合成酵素をターゲットとした肝脂肪化、線維化、
癌化の基礎研究。研究課題名（英文） The effect of DGAT on liver steatosis, fibrosis and carcinogenesis
in murine NASH models.

研究代表者

山口 寛二 (YAMAGUCHI KANJI)

京都府立医科大学・医学研究科・助教（寄附講座）

研究者番号：50381950

研究成果の概要（和文）：

肝臓に高発現する DGAT2 を抑制することで肝脂肪化は改善されたが線維化は悪化することとなった。一時的な肝脂肪化は、遊離脂肪酸の毒性からの回避を目的に肝保護的に働いていると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Suppression of DGAT2, which is highly expressed in hepatocytes, ameliorated liver steatosis but worsened liver fibrosis. This observation suggests that triglyceride synthesis helps to protect the liver from lipotoxicity by buffering FFA accumulation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学・肝臓学

キーワード：DGAT、炎症、肝脂肪化、肝線維化

1. 研究開始当初の背景

中性脂肪合成の最終段階で働く酵素 DGAT の

アイソフォームである DGAT2 をアンチセン

スオリゴ (ASO) で抑制するとマウス脂肪肝

モデルにおいて肝脂肪化、高脂血症が著明に

改善されることを報告されたが (Yu XX et al.

Hepatology 2005 Aug;42(2):362-71)、炎症を伴う脂肪肝炎での検討が必要と考えマウス脂肪肝炎モデルでの DGAT の役割について研究が進んでいる。

2. 研究の目的

我々は、メチオニン・コリン欠乏食によるマウス脂肪性肝炎モデルで DGAT 抑制の効果について検討した。結果、DGAT2 を抑制すると肝脂肪化は予想通り改善するも炎症、線維化が増悪した。逆に DGAT1 を抑制すると肝脂肪化の改善は認めないが線維化の改善がみられた。この結果は脂肪性肝炎発症機序として支持されている Two Hit Theory に反するものであった。従来悪役と考えられてきた肝内の中性脂肪の存在は、脂肪酸の曝露から肝細胞を守るためのバッファの意義があると考えられた (Yamaguchi K et al. Hepatology 2007 Jun;45(6):1366-74, Yamaguchi K et al. Hepatology 2008 Feb;47(2):625-35)。この相反する DGAT1 ASO と DGAT2 ASO の結果から、マウス脂肪肝、脂肪性肝炎モデルにおいて同時に中性脂肪合成酵素 DGAT1, 2 を抑制することで肝脂肪化、肝線維化の両者の進展阻害効果が得られるのではないかと考え研究テ

マとした。

3. 研究の方法

DGAT のアイソフォームである DGAT1 及び DGAT2 の同時抑制がマウス脂肪性肝炎モデルにおいて肝脂肪化、炎症、線維化へ及ぼす影響について検討した。肝細胞内では DGAT2 の活性が高く肝脂肪化に深く関与しているため DGAT2 ASO が Non Alcoholic Fatty Liver Disease (以下 NAFLD) の治療として有望視されていた。しかし脂肪性肝炎モデルで DGAT2 ASO は肝線維化を悪化させる結果となり DGAT2 ASO 単独投与では臨床応用は困難と判断された。しかし、レチノールのエステル化活性を併せ持つ DGAT1 は肝星細胞で活性が高く、先の研究で DGAT1 ASO は肝星細胞の分化を制御しその活性化を抑制することが判明した。この結果を踏まえ DGAT1, 2 を同時に抑制するモデルで NAFLD という広い病態に対して治療効果が得られると予想した。

db/db マウス 30 匹をコントロール食 10 匹、メチオニンコリン欠乏食 20 匹に分け、さらにメチオニンコリン欠乏食投与群は 2 群に分けて、それぞれ生理食塩水、DGAT1, 2 ASO を週に 2 回腹腔内投与した。4 週、8 週後に各 5

匹ずつから肝臓、血清、脂肪組織を採取し、肝臓の線維化、脂肪化、炎症を評価した。具体的には、DGTA1,2 同時抑制モデルで、肝臓の脂肪化については肝臓の中性脂肪含有率、脂質合成系、代謝系遺伝子の検討を、炎症については、血清生化学検査、アポトーシスの評価、過酸化脂質の評価を検討した。線維化に関しては、シリウスレッド染色、線維化マーカーの発現により検討した。

4. 研究成果

DGTA1,2同時抑制モデルとDGAT2単独抑制モデル間で、脂肪肝、炎症、線維化の明らかな差は見られなかった。DGAT 1 の抗線維化作用はレチノイド代謝を介する間接的なものと予想され、その効果は弱く打ち消された可能性があると考えられた。また肝臓ではDGAT2の発現が優位で影響が強く、DGAT2単独抑制の場合とほぼ同様の結果となった。そこで、DGAT1,2 抑制の割合を調節する必要があると考えられた。脂肪化抑制と線維化を別の事象と考え、個々に抑制を行うことで、脂肪性肝炎だけでなく慢性C型肝炎などの脂肪化、炎症、線維化を伴う肝炎においてもその病態を改善させる可能性がある。脂肪肝炎という慢性肝炎モデルにおいて、DGAT2の抑制はやや弱く調節し、

同時にDGAT1を強く抑制する条件は個体差が大きく影響し困難であったため、四塩化炭素を投与する、比較的急性の肝炎、線維化モデルでDGAT1,2の抑制効果を検討したが、炎症・線維化が強力でDGATの抑制が線維化を改善する結果は得られなかった。軽度の脂肪肝が長期的に炎症・線維化を誘導するような他の脂肪肝モデルでの検討が必要と考えられた。

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)

Yamaguchi K, Itoh Y, Yokomizo C, Nishimura T, Niimi T, Fujii H, Okanoue T, Yoshikawa T. Blockade of interleukin-6 signaling enhances hepatic steatosis but improves liver injury in methionine choline-deficient diet-fed mice. *Lab Invest.* 2010 Aug;90(8):1169-78.

[学会発表] (計 3 件)

①第 44 回日本肝臓学会総会 ワークショッ

プ 2008年6月4日 愛媛

「マウス脂肪性肝炎モデルにおける DGAT ASO
の効果について」

山口寛二、伊藤義人、横溝千尋、西村 健、
新美敏久、岡上 武、吉川 敏一

②第59回アメリカ肝臓病学会（ポスター）

2008年11月3日 サンフランシスコ アメ
リカ

「Inhibiting Interleukin-6/GP130
Signaling in Hepatocytes Worsens Hepatic
Steatosis and Fibrosis in Lean and db/db
mice Fed Methionine Choline Deficient
Diets.」

Kanji Yamaguchi, Yoshito Itoh, Toshihisa
Niimi, Norihiro Mitsuyoshi, Koichiro
Yasui,
Masahito Minami, Masaki Iwai, Okanoue
Takeshi, Toshikazu Yoshikawa

③第38回日本肝臓学会西部会 2009年12
月4日 鳥取

「マウス脂肪肝、脂肪性肝炎モデルにおける
IL-6 と肝脂肪化の関係について」

山口寛二、伊藤義人、横溝千尋、西村 健、

新美敏久、岡上 武、吉川 敏一

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 寛二 (YAMAGUCHI KANJI)

京都府立医科大学・医学研究科・助教(寄
付講座)

研究者番号：50381950

(2) 研究協力者

伊藤 義人 (ITOH YOSHITO)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号：70244613

(3) 連携研究者

()

研究者番号：