

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591589

研究課題名(和文) 小児期非アルコール性脂肪肝における酸化ストレス評価法の検討

研究課題名(英文) Evaluation of oxidative stress in children with non-alcoholic steatohepatitis

研究代表者

玉井 浩 (TAMAI, HIROSHI)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：30179874

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：非アルコール性脂肪肝炎(NAFLD)は、先進国の一般的な肝臓疾患であり、成人および小児でもその発症率は増加している。抗酸化作用を有するビタミンEはNAFLDに有効であるが、その作用機序はまだ解明されていない。本研究では、NAFLDモデル(メチオニン・コリン欠乏食)ラットにおいて、ビタミンE作用機序を検討した。その結果、ビタミンE投与において、 α -トコフェロール輸送タンパク質の発現に影響し、抗酸化作用を発揮している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disorder in developed countries, and its incidence is increasing in adults and children. As an antioxidant, vitamin E is effective in treatment of NAFLD, although the mechanism is still unclear. Methionine-choline deficient (MCD) rats used as an experimental model of NAFLD were fed a vitamin E-enriched diet. In the MCD rats, vitamin E treatment altered the hepatic α -tocopherol-related protein expression, which may affect the α -tocopherol status in the liver and reduce lipid peroxidation.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床学・小児科学

キーワード：非アルコール性脂肪性肝疾患 非アルコール性脂肪肝炎 抗酸化剤

1. 研究開始当初の背景

代表的な生活習慣病である糖尿病、高脂血症、高血圧、肥満症は、お互いに合併することが多い。さらに動脈硬化症の危険因子であり、これらをまとめた疾患概念として、メタボリックシンドロームがある。生活習慣病の予防には、小児期から肥満を発見し、進行の予防および治療することが重要である。肥満の増加に伴い、非アルコール性脂肪肝 (NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease) の有病率も上昇している。非アルコール性脂肪肝のひとつとして非アルコール性脂肪肝炎 (NASH; non-alcoholic steatohepatitis) がある。NASHは肝脂肪変性に肝実質の炎症・壊死、線維化を伴う慢性の炎症性疾患である。その発症進行機序には、肝細胞に脂肪酸あるいは中性脂肪の蓄積することに加えて、エンドトキシン、酸化ストレス、サイトカインなどの関与が推察されている。

小児科領域における NASH に関する研究は発展途上である。また小児の NASH に関する報告も数少なく、その多くは肝臓組織所見に関する報告である。他の臨床検査 (酸化ストレスマーカーおよび血管内皮機能など) を同時に評価した報告は皆無である。また小児科領域でも NASH の頻度は人種差を認める。メタボリックシンドローム予備軍である肥満児において、NASH の病態を明らかにすることは意義がある。

2. 研究の目的

今回我々は、小児における NASH の臨床像を明らかにし、酸化ストレスがいかにその病態に関与しているかを検討する。さらに NAFLD モデルの動物実験において、抗酸化剤 (ビタミン E) による治療効果および作用機序を検討する。本研究において、ビタミン E の作用機序を明らかにすることは、本邦における小児 NASH の臨床像の解明および小児科領域における NASH の治療戦略にも有益な知見を与えることが期待される。

3. 研究の方法

MCD (メチオニン・コリン制限) 食にてラットを飼育すると、肝臓に脂肪沈着が発症し、脂肪肝を呈する。さらには線維化および炎症細胞の浸潤を伴う病態となる。今回、NAFLD モデルとして MCD ラットを用い、Wistar ラット (4 週齢、雄) を対照食群 (-トコフェロール 20mg/kg 飼料)、ビタミン E 過剰食群 (-トコフェロール 500mg/kg 飼料)、MCD 食群、MCD + ビタミン E 過剰食群の 4 群に分けて 4 週間飼育し、肝臓の組織染色 (HE 染色)、 -トコフェロール濃度、肝臓 TBRAS 濃度および -TTP 遺伝子発現 (mRNA) を調べた。

ビタミン E 同族体の中では、 -トコフェロールが選択的に細胞質中の -TTP (-tocopherol transfer protein; ビタミン E 輸送タンパク質) と結合する。 -トコフェロールは、VLDL (very low-density lipoprotein) に組み込まれて、血液中に放出される。その他のビタミン E 同族体は、肝臓中で代謝される。 -TTP は主に肝臓に発現し、その主な機能は細胞内の -トコフェロール輸送であり、循環血液中の -トコフェロール濃度を調節する役割を担う。

4. 研究成果

MCD 食群の肝組織で脂肪滴の蓄積、中心静脈周囲の炎症と線維化などを認められたが、ビタミン E 過剰投与による組織の改善は認められなかった。しかし、MCD 食群では肝臓中 TBARS レベルの上昇を認めたと、その上昇はビタミン E 過剰投与により改善された。肝臓中の -TTP 遺伝子発現は、MCD 食群および MCD + ビタミン E 過剰食群で抑制されていた。また、MCD + ビタミン E 過剰食群の肝臓中の -トコフェロール濃度は、対照食群、ビタミン E 過剰食群、MCD 食群などと比較して有意に上昇していた (図参照)。MCD + ビタミン E 過剰食群の肝臓では、 -トコフェロール濃度は -TTP 遺伝子

発現の低下の影響を受けている可能性が考えられた。

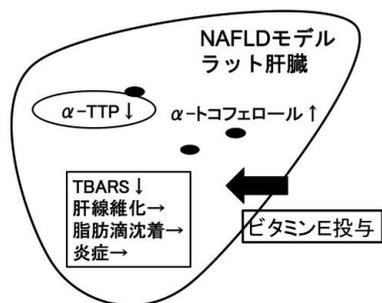
ビタミンEは抗酸化作用を有するため、その臨床応用が期待されている。特に臨床応用されているNAFLDのビタミンE治療において、ビタミンEの動態および代謝メカニズムの検討は意義があると考えられる。その中で、ビタミンE濃度の調節因子である α -TTPの役割は非常に重要である。種々の病態におけるビタミンE動態および α -TTPの発現調節の研究は抗酸化ストレス療法メカニズムの解明に寄与し、これらの研究のさらなる発展が期待される。さらに小児のNAFLDのビタミンE療法に対して、有益な情報を与える可能性がある。

参考文献：瀧谷公隆

「疾患におけるビタミンE濃度調節機構」

ビタミン 87,2013, 678-684

図：NAFLDモデルにおけるビタミンE動態の影響



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45件)

1) Miyazaki H, Takitani K, Koh M, Yoden A, Tamai H.

The α -tocopherol status and expression of α -tocopherol-related proteins in methionine-choline deficient rats treated with vitamin E.

J Clin Biochem Nutr. 査読有 54, 2014, 190-197.

2) Yoshida S, Tanaka H, Nakao R, Okamoto N, Kajiura M, Kanbara Y, Azuma S, Tamai H.
Variant cardiovascular regulation in children with postural tachycardia syndrome.

Pediatr Int. 査読有 56, 2014, 328-335.

3) Miyazaki H, Takitani K, Koh M, Takaya R, Yoden A, Tamai H.

α -Tocopherol status and expression of α -tocopherol transfer protein in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats.

J Nutr Sci Vitaminol. 査読有 59, 2013, 64-68.

4) Ishiro M, Takaya R, Mori Y, Takitani K, Kono Y, Okasora K, Kasahara T, Tamai H.

Association of uric acid with obesity and endothelial dysfunction in children and early adolescents.

Ann Nutr Metab. 査読有 62, 2013, 169-176.

5) Nakao R, Tanaka H, Takitani K, Kajiura M, Okamoto N, Kanbara Y, Tamai H.

GNB3 C825T polymorphism is associated with postural tachycardia syndrome in children.

Pediatr Int. 査読有 54, 2012, 829-837.

6) Inatomi T, Oue S, Ogihara T, Hira S, Hasegawa M, Yamaoka S, Yasui M, Tamai H.

Antenatal exposure to Ureaplasma species exacerbates bronchopulmonary dysplasia synergistically with subsequent prolonged mechanical ventilation in preterm infants.

Pediatr Res. 査読有 71, 2012, 267-273.

7) Nitta M, Iwami T, Kitamura T, Nadkarni VM, Berg RA, Shimizu N, Ohta K, Nishiuchi T, Hayashi Y, Hiraide A, Tamai H, Kobayashi M, Morita H; Utstein Osaka Project.

Age-specific differences in outcomes after out-of-hospital cardiac arrests.

Pediatrics. 査読有 128, 2011, e812-20. doi: 10.1542/peds.2010-3886.

8) Inoue A, Takitani K, Koh M, Kawakami C, Kuno T, Tamai H.

Induction of apoptosis by γ -tocotrienol in human cancer cell lines and leukemic blasts from patients: dependency on Bid, cytochrome c, and caspase pathway.

Nutr Cancer. 査読有 63, 2011, 763-70.

9) Takitani K, Miyazaki H, Fukunishi S, Takaya R, Yoden A, Higuchi K, Tamai H.

Altered expression of both β -carotene 15,15' monooxygenase and lecithin:retinol acyltransferase in obese Zucker rats.

J Nutr Sci Vitaminol. 査読有 57, 2011, 108-13.

10) Shichiri M, Yoshida Y, Ishida N, Hagihara Y, Iwahashi H, Tamai H, Niki E.

α -Tocopherol suppresses lipid peroxidation and behavioral and cognitive impairments in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome.

Free Radic Biol Med. 査読有 50, 2011, 1801-1811.

11) Aomatsu T, Yoden A, Matsumoto K, Kimura E, Inoue K, Andoh A, Tamai H.

Fecal calprotectin is a useful marker for disease activity in pediatric patients with inflammatory bowel disease.

Dig Dis Sci. 査読有 56, 2011, 2372-2377.

12) Ban R, Ogihara T, Mori Y, Oue S, Ogawa S, Tamai H.

Meconium aspiration delays normal decline of pulmonary vascular resistance shortly after birth through lung parenchymal injury.

Neonatology. 査読有 99, 2011, 272-9.

〔学会発表〕(計2件)

1) 第65回日本ビタミン学会
平成25年5月17-18日(東京)
講演「ビタミンEの臨床的意義」
玉井浩

2) 第40回日本小児栄養消化器肝臓学会
平成25年10月31日-11月3日
講演「ビタミンE研究の進歩」
玉井浩

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.osaka-med.ac.jp/deps/ped/index.html>

6. 研究組織

1) 研究代表者

玉井 浩 (TAM Hiroshi)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：30179874

(2) 研究分担者

瀧谷 公隆 (Takitani Kimitaka)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：80319540