

- J Gastroenterol. 2008; 43: 86-92.
- 70) Westerbacka J, Kolak M, Kiviluoto T, et al. Genes involved in fatty acid partitioning and binding, lipolysis, monocyte/macrophage recruitment, and inflammation are overexpressed in the human fatty liver of insulin-resistant subjects. *Diabetes*. 2007; 56: 2759-65.
- 71) Ota T, Takamura T, Kurita S, et al. Insulin resistance accelerates a dietary rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2007; 132: 282-93.
- 72) Lang L. Pioglitazone trial for NASH: results show promise. *Gastroenterology*. 2007; 132: 836-8.
- 73) Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2005; 100: 1082-90.
- 74) Nair S, Diehl AM, Wiseman M, et al. Metformin in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a pilot open label trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004; 20: 23-8.
- 75) Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, et al. A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004; 2: 1107-15.
- 76) Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2297-307.
- 77) Meymeh RH, Woollorton E. Diabetes drug pioglitazone (Actos): risk of fracture. *CMAJ*. 2007; 177: 723-4.
- 78) Erdmann E, Charbonnel B, Wilcox RG, et al. PROactive investigators. Pioglitazone use and heart failure in patients with type 2 diabetes and preexisting cardiovascular disease: data from the PROactive study (PROactive 08). *Diabetes Care*. 2007; 30: 2773-8.

NASH発症に関連する遺伝子多型

宮本敬子* 岡本宣人* 西原利治*

索引用語：BMI, 高インスリン血症, 脂肪肝, NAFLD

1 はじめに

NASHは病理学的に steatohepatitis と診断された症例の内, アルコールが誘因でない症例の総称である¹⁾. 本邦では body mass index 【BMI=体重(kg)÷身長²(m)】が25以上の肥満者は過去40年間にわたり年率約4%で増加を続けている. このため, 15歳以上の日本人の肥満者は男性1,300万人, 女性1,000万人となった. そのうち, 高度肥満者(BMI>30)は250万人に上る(図1). このような高度肥満者ではNASH発症の相対危険率が非肥満者(BMI<25)の51倍と極めて高値である. 米国ではBMI>30の肥満者の1割がNASHなので, 本邦でもBMI>30の肥満に伴うNASHが少なくとも25万症例存在すると考えられる²⁾. アジア人の特性として30>BMI>25の症例でも高頻度に糖尿病を発症することが知られている. NASHにおいても同様で, 30>BMI>25症例でも相対危険率が非肥満者の6.7倍を示す.

肥満が主な誘因である症例の他にも, 薬物

誘発性症例や小腸バイパス手術のような消化管外科手術後症例, 潜在性代謝障害症例など多様な病態が含まれる可能性がある. このため, NASHの総数は100万人を超えると推定されている. しかし, これらの非肥満のNASH症例は肥満に伴う症例と発症機序がかなり異なる可能性が高い. そこで, 本稿では肥満が誘因である症例の遺伝的背景について機能性 single nucleotide polymorphism (SNP) の解析を行った成績を紹介したい.

2 肝機能異常を伴わない脂肪肝

脂肪肝の出現は健常状態からの逸脱における最初の兆候である. この過程に重要な働きをするのは上述のようにBMIの増加で, 過食・運動不足に加えて, 遺伝的な側面からは儉約遺伝子の変異が疾患の進展に関与すると考えられる. 日本人は儉約遺伝子として有名な変異型 β -adrenergic receptor (Trp64Arg) の保有率が約3割と, 世界的にみても高頻度である³⁾. このTrp64Arg変異を持つと基礎代謝量が少なくてすむため, 飢餓には抵抗性

Keiko MIYAMOTO *et al* : Single nucleotide polymorphisms associated to the development of NASH

*高知大学消化器内科 [〒783-8505 南国市岡豊町小蓮]

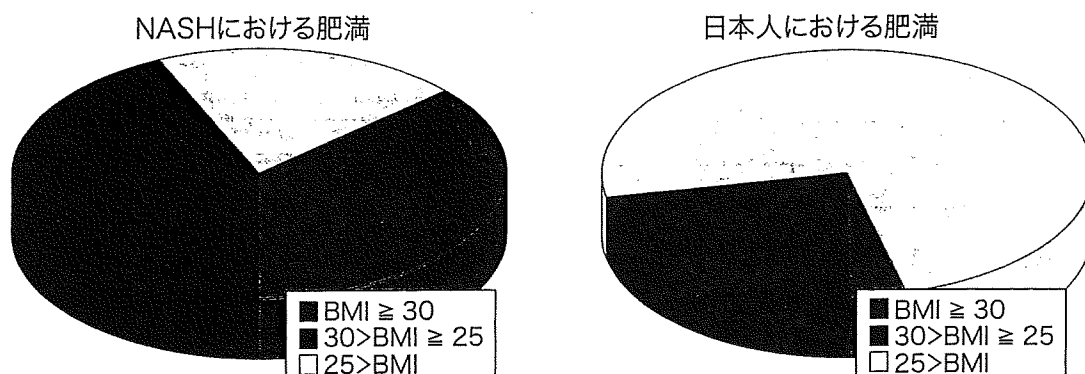


図1 NASHの危険因子としての肥満

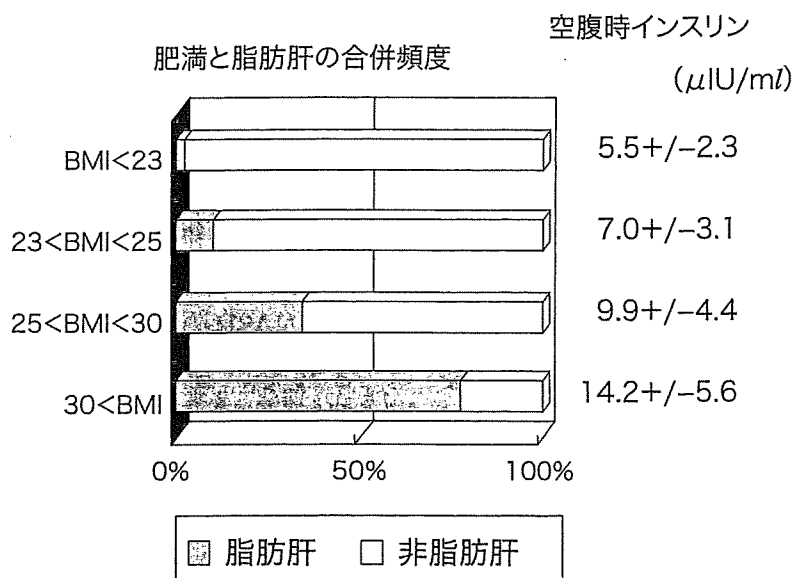


図2 検診を受診した非飲酒者における肥満度別の脂肪肝頻度と空腹時インスリン値
BMIが25～30である症例の半数では空腹時インスリン値が10 μU/mlを超えている

が高まる。しかし、基礎代謝量が少ないということは同時に、一旦肥満となると減量が困難となることをも意味する⁴⁾。実際、本邦のNASH症例の5割はこの変異を有しており、このTrp64Arg変異を有するとNASHに2.4倍罹患しやすくなると推計される。また、一旦Trp64Arg変異保有者がNASHを発症すると、「肥満の持続→NASHの遷延→肝線維化進展」という状況に陥りやすいことが予想され、野性型の遺伝子保有者のNASHに比してより治療抵抗性となる可能性がある。

3 肝機能異常を伴わない脂肪肝から単純性脂肪肝を伴うNAFLDへ

単純性脂肪肝を伴うNAFLDといえば、肝臓の組織学的検索を行っても異常のない症例と誤解されるかもしれない。しかし、ここでいう単純性脂肪肝とは典型的なsteatohepatitisの像を示さない脂肪肝を伴う脂肪肝という意味であり、歴とした慢性肝疾患である。肝機能異常を伴わない脂肪肝から単純性脂肪肝を伴うNAFLDへ進展に大きくかわるのは、持続する高インスリン血症である(図2)

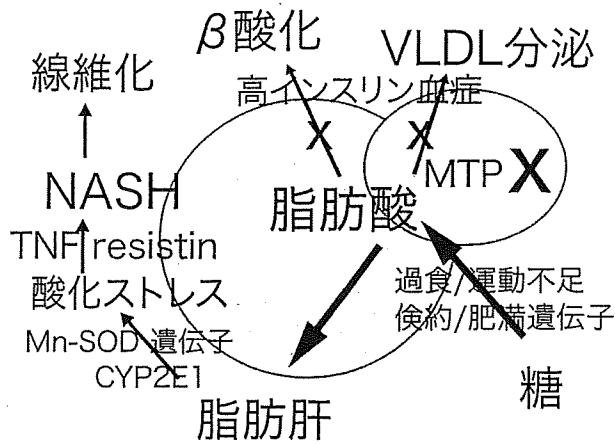


図3 肝臓における脂肪代謝とNASH

ので、肥満の持続に加えて高インスリン血症を惹起する環境的・遺伝的因子の関与が想定される。

肥満を伴う症例では肝臓からの糖の放出を抑えて血糖を正常値に維持するため、インスリンの基礎分泌量が亢進している(図2)。また、このような症例では食後高血糖を抑制するためには高濃度のインスリンが必要なため、食事刺激によりβ細胞に蓄えられていたインスリンの分泌を反映する早期相に加えて、インスリンの合成を伴う後期相においてもインスリン分泌が亢進して、しばしば高インスリン血症の遷延が観察される⁵⁾。

図3にこのような症例の肝臓における中性脂肪沈着機構を示した。過食・肥満により肝臓における脂肪酸合成が亢進する(①)一方で、日中の高インスリン血症のためにVLDLの分泌(②)が強く抑制され、肝細胞に中性脂肪が蓄積する。夜間にはこの中性脂肪をエネルギー源とする脂肪酸のβ酸化(③)が行われるが、インスリンの基礎分泌が亢進していると、中性脂肪の使用が抑制されるため脂肪肝が形成され则认为られている。

欧米の高度肥満者は高インスリン血症を合併することが多いので、インスリンの後期分泌が遷延しているにもかかわらず耐糖能が破綻するようになると、一部症例は単純性脂肪肝を伴うNAFLDからNASHに進展するのではないかと危惧されている^{6,7)}。しかし、それまでの過程が比較的均一な集団間の遷移であるのに比して、NASHでは肝臓の線維化が進展するため、その病態は慢性肝炎の状態から肝硬変近い症例までさまざまである。このため、NASHという比較的均質な病態を仮定して、多変量解析により上記の病態間の進展に関与する因子を同定することは甚だ困難となる。これ以後の解析方法として、われわれに残された道は二つとなる。一つはNASHに伴う事象を観察し、その事象に影響を与得る分子の機能性遺伝子多型を検索する方法、もう一つは何らの仮定を置くことなく網羅的に遺伝子多型を検索してNASH発症の危険因子を同定する方法である。

前者の例としては、アポリポ蛋白Bに中性脂肪を付加してVLDLを形成し分泌する過程をあげることができる。この過程では、すでにmicrosomal triglyceride transfer protein (MTP)の果たす役割の重要性が認識されている(図3)^{8,9)}。MTPのpromoter領域には機能性遺伝子多型(G-493T)が存在¹⁰⁾し、健常日本人の6割、NASH症例の8割が中性脂肪量の少ないVLDLを放出する低機能性ホモ接合体である。低機能性ホモ接合体の場合、NASHに3.0倍罹患しやすくなると推計される。MTPの発現はインスリンをはじめとする種々の因子により制御されるため、遺伝子多型のみでMTP活性が決定されるわけでは

表1 MTP遺伝子多型によるNASHの臨床像への影響

遺伝子多型	野生型	変異型
年齢	44.8+/-16.0	37.9+/-15.9
BMI	28.7+/-4.7	28.3+/-4.8
肝/脾比	0.66+/-0.31	0.88+/-0.07 (p<0.04)
ALT (IU/L)	105+/-68	77+/-66

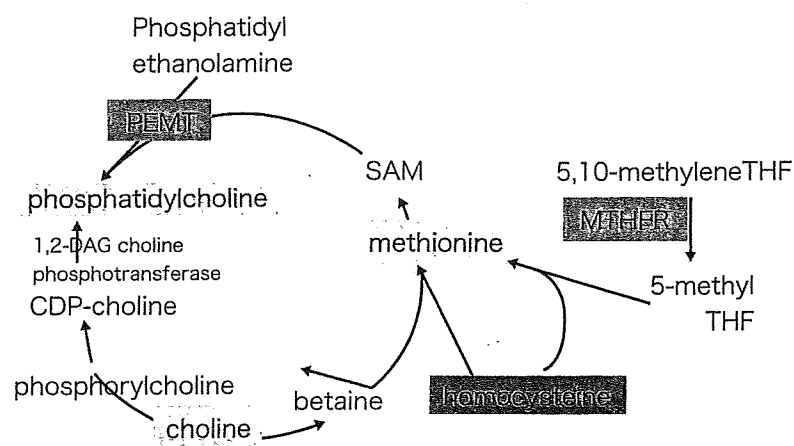


図4 phosphatidylcholineの合成系とPEMTの役割

ない。そこでNASH症例を対象にして、この遺伝子多型の関与する臨床的表現型が存在するか検討してみた。両遺伝子型間でBMIには差異を認めないのに、CT検査における肝/脾比が低機能性ホモ接合体ではヘテロ接合体より低値であった(表1)。これはMTPの発現が多因子により制御されるにもかかわらず、低機能性ホモ接合体では中性脂肪の分泌能が低値であり、肝細胞に中性脂肪がより貯留しやすいことを示す成績と考えられた。

もう一つの例として、NASHの発症に関与するとされる酸化ストレスを例に挙げてみよう。生体内での産生される phosphatidylcholine は細胞膜の基本的構造物の一つであるため成長や生存に必須の栄養素である。その産生経路はコリンを基質とするものとアミノ酸の一つであるメチオニン(メチオニン)を基質とするものがある(図4)。ヒトではチオニン(チオニン)を基質とする phosphatidylcholine の合成経路を司る phos-

phatidylethanolamine N-methyltransferase の活性を喪失するよう遺伝子変異 V175M が高頻度に存在するため、食事から摂取するコリンが欠乏すると、容易に phosphatidylcholine の欠乏を生じ、NADPH oxidase からのラジカルの産生が高まり典型的な脂肪肝炎を発症すると考えられる¹¹⁾。いわゆるコリン欠乏症である¹²⁾。この遺伝子変異をホモ接合体として持つ白人の頻度は30~40%であり、白人がコリン欠乏を避けようと過食傾向をきたす一つの誘因となっているのではないかと考えられている。十分にコリンの補充を行わないで厳格な食事指導を行うと、NASHのさらなる増悪をきたす可能性があるという報告されているが、このような症例ではここに示した PEMT 遺伝子の変異が関与する可能性もあるのではなからうか。幸い日本人ではこの遺伝子変異を持つ頻度が5%程度であり、欧米人のような高度肥満に至る症例が少ないのかも

しれない。この遺伝子変異を持つ日本人では過度の肥満に至らないままにNASHを発症する傾向が認められ、この遺伝子変異を持つとNASHを発症する危険率が5倍に上昇する。

5 おわりに

NASHの発症に関与する因子は糖尿病の場合と同様に多岐に亘ることが予想される。上述のようにNASHに伴う事象を観察し、その事象に影響を与え得る分子の機能性遺伝子多型を検索する方法ではすでに多数のSNPの関与が示されている。しかし、そのようなSNPのいずれが最も重要な因子なのかを知るためには、何らの仮定を置くことなく網羅的に遺伝子多型を検索してNASH発症の危険因子を同定することが必要である。すでに、そのような大規模解析が始まっており、PNPLA3をはじめとする遺伝子のSNPの関与が示唆されており、このような解析によりNASH治療のbreakthroughを見つけることがまもなく現実のものとなると期待されている。

文 献

- 1) Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB et al : Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc 55 : 434-438, 1980
- 2) 西原利治, 大西三朗, 円山英昭 : 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の最近の話題, 日本内科学会雑誌 92 : 1104-1109, 2003
- 3) Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E et al : Association of Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic-receptor with NIDDM and body weight gain. Diabetologia 39 : 349-353, 1996
- 4) Pietri-Rouxel F, Manning BSJ, Gros J et al : The biochemical effect of the naturally occurring Trp64→Arg mutation on human b3-adrenoreceptor activity. Eur J Biochem 247 : 1174-1179, 1997
- 5) Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P et al : Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 122 : 274-280, 2002
- 6) Kalk H : Uber die Fettleber. Munch Med Wschr 107 : 1141-1147, 1965
- 7) Robbers H, Strohhfeldt P, Krüger C : Differential diagnosis of diabetic and alcoholic fatty liver. Studies on 171 diabetics and 100 patients with alcohol abuse. Dtsch Med Wochenschr 93 : 112-113, 1968
- 8) Shelness GS, Ingram MF, Huang XF et al : Apolipoprotein B in the rough endoplasmic reticulum: translation, translocation and the initiation of lipoprotein assembly. J Nutr 129 : 456S-462S, 1999
- 9) Letteron P, Sutton A, Mansouri A et al : Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein: Another mechanism for drug-induced steatosis in mice. Hepatology 38 : 133-140, 2003
- 10) Karpe F, Lundahl B, Ehrenborg E et al : A common functional polymorphism in the promoter region of the microsomal triglyceride transfer protein gene influences plasma LDL levels. Arterioscler Thromb Vasc Biol 18 : 756-761, 1998
- 11) Dong H, Wang J, Li C et al : The phosphatidylethanolamine N-methyltransferase gene V175M single nucleotide polymorphism confers the susceptibility to NASH in Japanese population. J Hepatol 46 : 915-920, 2007
- 12) Hirose A, Ono M, Saibara T et al : Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits fibrosis in rat nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology 45 : 1375-1381, 2007

*

*

*

特集I 消化器医が取り組む肥満治療

NASH患者のインスリン抵抗性の特徴と肥満対策*

高橋 昌也**
小野 正文**
西原 利治**

Key Words : NASH, NAFLD, insulin resistance, obesity

はじめに

近年、食生活の欧米化や運動不足により、本邦において肥満が大きな問題となっている。肥満は糖尿病、高脂血症、高血圧など種々の疾患を伴いやすく、メタボリックシンドロームの成立に不可欠の要因である。最近のメタボリックシンドロームの社会的関心の高まりもあり、メタボリックシンドロームの肝臓での表現系である非アルコール性脂肪性肝疾患(non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD)や非アルコール性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis: NASH)の背景を理解することは、われわれ医療従事者にとって大変重要であると考えられる。NASHは1980年にLudwigにより提唱され、病理学的にsteatohepatitisと診断された症例のうち、過量な飲酒歴のない症例の総称である。これは肥満や糖尿病が誘因である症例のほかにも、薬物誘発性症例や小腸バイパス手術のような消化管外科手術後の症例など多様な病態が含まれる。今後ますますNASHの増加が予想され、肝疾患における重要な位置を占めることが予想されている。

この項目では、本邦におけるNAFLD およびNASHと肥満との関連について、さらにNAFLD/NASH発症の一因と考えられているインスリン

抵抗性についての検討を紹介する。

本邦におけるNASHの頻度

NASHとはNAFLDの中で組織学的に脂肪肝炎を伴うことが確認された病態で、NAFLDの重症型と考えられている¹⁾²⁾。成人のNASHの罹患率は約1%と考えられており³⁾⁴⁾、その頻度に男女差はないとされている。しかし男性は若年に多く、女性は50歳を過ぎてからその頻度が急増しており、性による分布の違いが認められる³⁾⁵⁾。また、女性ではNASHへ進行する率が男性に比して高いと推定されており、脂肪肝からNASHに至るまでの期間も、男性に比して短いと推定されている⁶⁾。

本邦における肥満者の年次推移

本邦における肥満(BMI $\geq$ 25)の増加は、増加の一途をたどっており、男性は1,300万人、女性は1,000万人で、男性でその傾向が強いことがわかる(図1)。男女別の肥満頻度の推移をみると、女性では中年以降に徐々に増加しており、とくに高年齢層の割合が多いのに対し、男性では30歳以降で急激に肥満者の増加がみられ、69歳までその割合が30%を超えており、今後もその傾向が続くことが予想される。また、年次推移の特徴として平成15年の統計では、男性の肥満者割合は、ほぼすべての年齢層で増加しているのに対し、女性では40~69歳までの層で肥満

* Insulin resistance and treatment for obesity of NASH.

** Masaya TAKAHASHI, M.D., Ph.D., Masafumi ONO, M.D., Ph.D. & Toshiiji SAIBARA, M.D., Ph.D.: 高知大学医学部消化器内科学[〒783-8506 南国市岡豊町小蓮]; Department of Gastroenterology and Hepatology, Kochi Medical School, Nangoku 783-8506, JAPAN

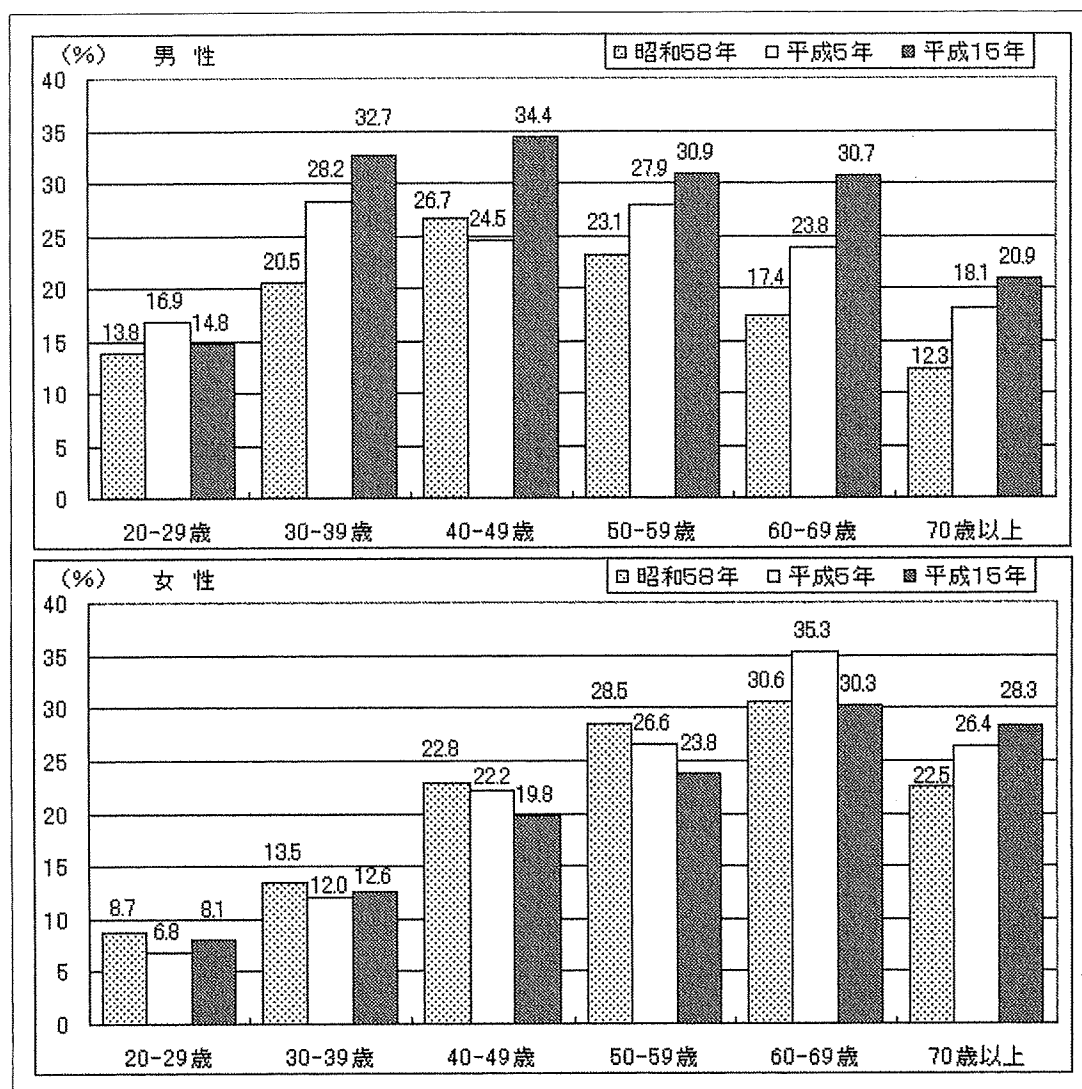


図1 肥満者の(BMI $\geq$ 25)の年次推移(厚生労働省：平成15年国民健康・栄養調査より)

者数の低下が認められ、肥満者の割合が30%に達しているのは60～69歳の層のみとなっている点が特徴的である。

なお、男性では内臓脂肪型肥満が多く、女性では皮下脂肪型肥満が多い。

BMIと腹囲計測による肥満の状況

厚生労働省は平成15年度国民栄養調査から腹囲の計測を開始した。それは、メタボリック症候群の社会的注目の高まりとともに、メタボリック症候群が上半身肥満(中心性肥満)と大いに関連するためであると思われる。その調査結果によると、上半身肥満の疑い(男性：BMI 25以上で腹囲85cm以上、女性：BMI 25以上で腹囲90cm以上)の割合が、男性で24.9%、女性で13.8%で

あり男性の上半身肥満が多いことが明らかとなった(図2)。女性では腹囲のみ超過している人の割合は多くないのに対し、男性は腹囲のみ超過している人の割合が多く、上半身肥満はより男性に多いことがわかる。驚いたことに、40～69歳では人口の半数が正常体型ではなく、腹囲超過もしくは、肥満を有している。上半身肥満はメタボリック症候群やNAFLD, NASHの発症と大いに関連あることが明らかであることから、この年齢層の肥満人口の増加は重大な社会問題であり、早急に対策が必要であると考えられる。

肥満と肝障害の関連

近年、肥満による肝障害の頻度が増加していると考えられているが、われわれも検診受診者

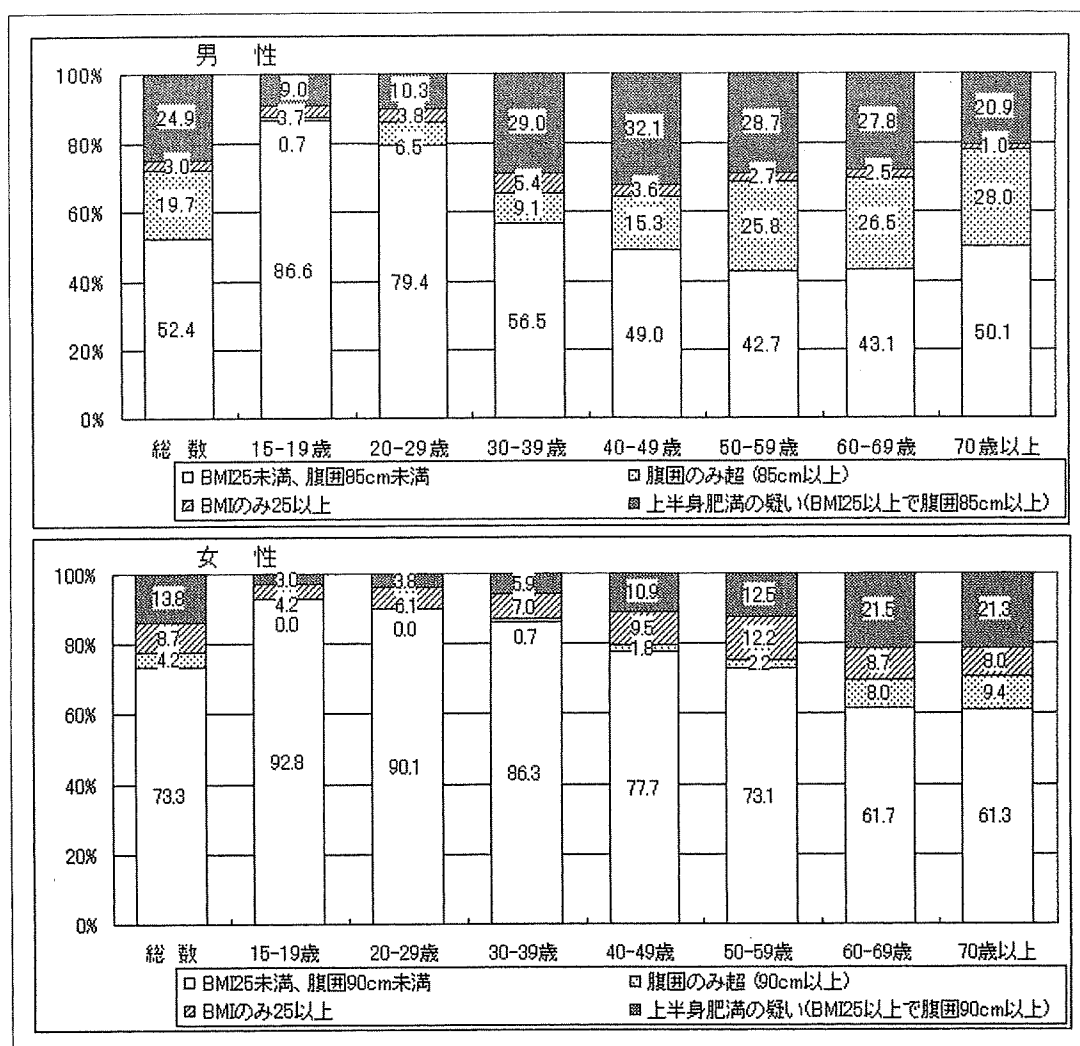


図2 BMIと腹囲計測による肥満の状況(厚生労働省：平成15年国民健康・栄養調査より)

を対象として検討を行った。非飲酒者で薬剤やサプリメント服用歴のない検診受診者を対象に、BMIと肝障害の関連について検討した(図3)。非肥満者(BMI 23未満)には肝障害を示す症例はほとんどいないのに対し、肝障害は過体重以上(BMI 23以上)の症例にはほぼ限られており、BMI 25以上の肥満者においてはその頻度が顕著であった。また、BMI 25以上の肥満者には約2割の症例で肝障害が観察されるのに対し、BMI 25未満の非肥満者ではわずか2%に過ぎなかった。このことは、近年の肥満人口の増加に伴う肝障害患者数の増加の原因の一つとなっており、検診において非飲酒肥満者の多数例で肝臓の脂肪化が観察される点は留意に値する⁷⁾。

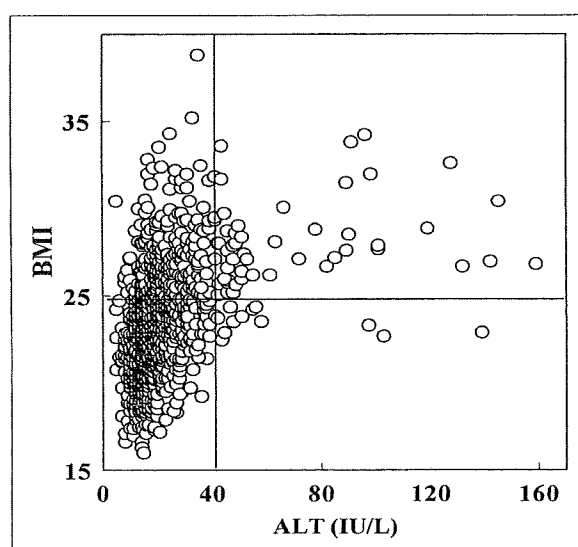


図3 BMIと肝障害の関連

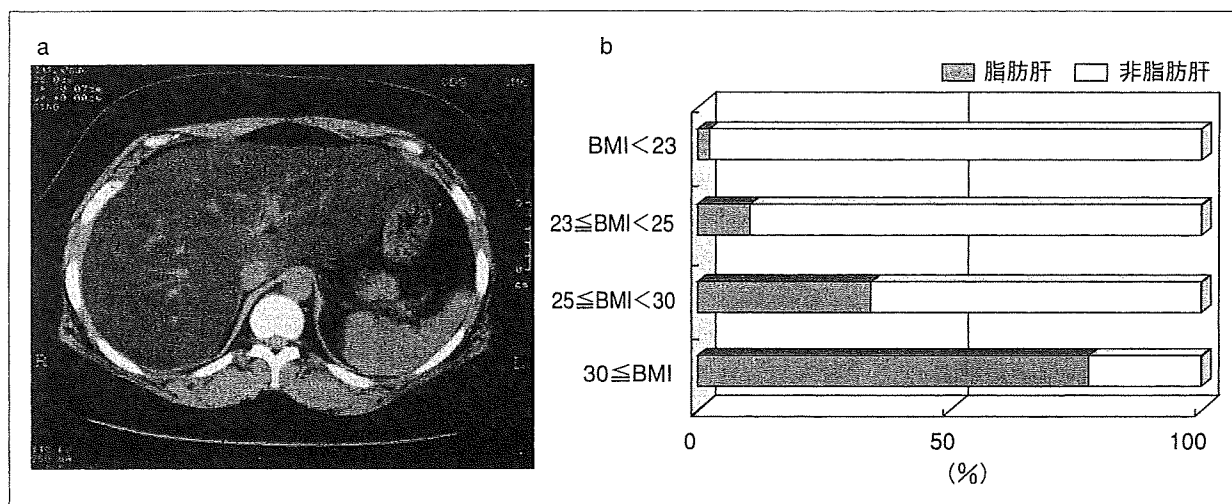


図4 高度の脂肪化をきたしたNAFLD症例(a)と肥満と脂肪肝の合併頻度(b)

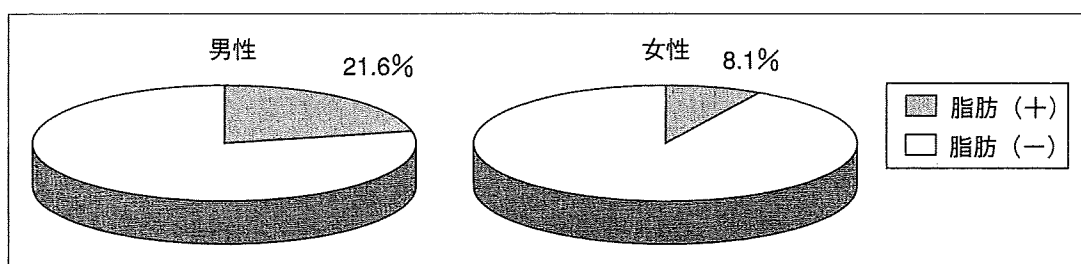


図5 男女別の脂肪肝合併頻度

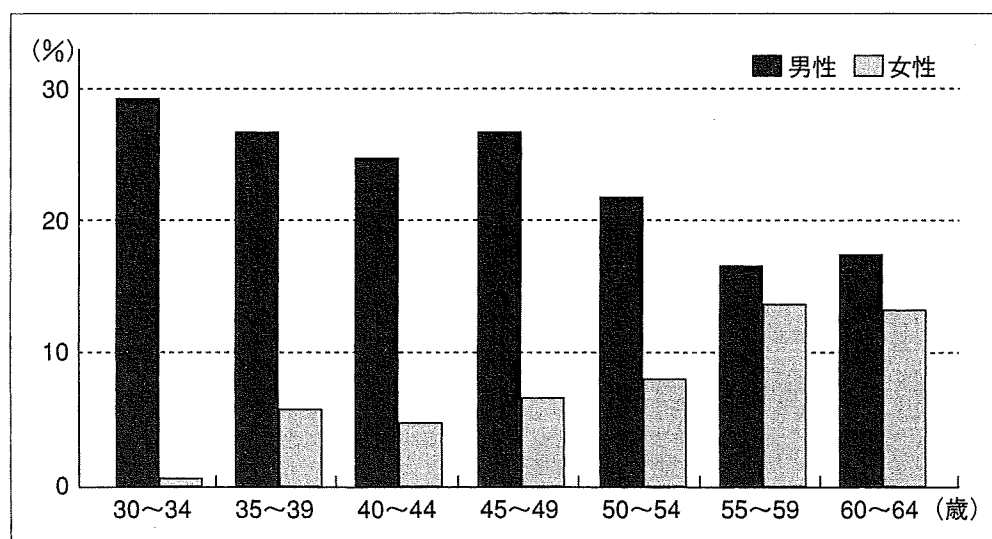


図6 非飲酒者での脂肪肝の年齢別頻度

肥満と脂肪肝の関連

脂肪肝は検診受診者の1/3~1/4に存在しており、経験的に肥満者に多いとされている。そこで、非飲酒検診受診者を対象として単純CTにおける肝/脾比0.9を指標に、肥満度別の脂肪肝の頻度を検索したところ(図4-a, b), BMI 23以下の非肥満者

における脂肪肝の頻度はわずかに2.7%であるのに対し、23 ≤ BMI < 25の過体重者では10.5%, 25 ≤ BMI < 30の肥満者では34.6%, 30 ≤ BMIの高度肥満者では77.6%と肥満の程度が強くなるほど脂肪肝の合併率は上昇していた。さらに、男女別の脂肪肝合併頻度は、男性の方が高頻度であった(図5)。さらに、非飲酒者での脂肪肝の年齢別頻

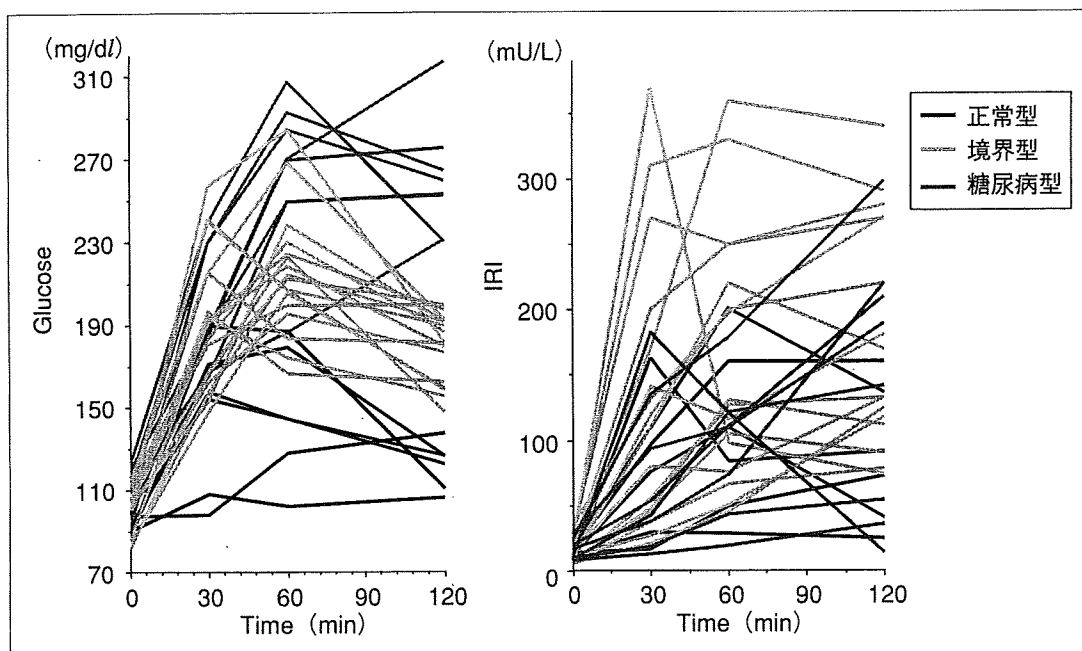


図7 NASHにおける75g経口ブドウ糖負荷(OGTT)

度をみると(図6), 男性では脂肪肝の割合が30歳代から高頻度に見られるのに対し, 女性では高齢になるにつれて徐々に高頻度となっており³⁾, 図1の肥満者の年齢別推移と比較すると, 男女ともに似ており, この点からも肥満と脂肪肝の関連が重要であることがわかる。以上のことより, NASH発症の背景因子としての脂肪肝の増加は重要な意味を有すると考えられる。

インスリン抵抗性とNASH

インスリン抵抗性とは, インスリンによる血糖の恒常性が保てず, 糖処理機構が十分働かない状態であり, 肝臓では, 糖, 脂質代謝異常を惹起し, 肝臓内に脂肪が蓄積していく状態と言える。

インスリン抵抗性は非常に多くのNASH症例で観察される共通の病態である。しかし, 日本人が罹患しやすい2型糖尿病で問題とされるインスリン抵抗性とは根本的に異なる病態であると考えられる。日本人の2型糖尿病はインスリン分泌が低いことが特徴的で, 軽度のインスリン抵抗性により容易に糖尿病が発症する。これに対し, 欧米における糖尿病では高度のインスリン抵抗性が特徴的であり, インスリンの過分泌により著しい高インスリン血症を示すにもかかわらずインスリン抵抗性を克服できずに耐糖能異常を呈する。す

なわち, 「NASHに特徴的な」インスリン抵抗性とは, 高度の肥満に伴う欧米型のインスリン抵抗性の増大そのものと言うことができ, 8割の症例で耐糖能異常が観察される(図7)。75g経口ブドウ糖負荷を行うと, 耐糖能に応じて, 正常型, 境界型, 糖尿病型に分類されるが, より多量のインスリン分泌が観察されるのがNASHの一つの特徴である。この高インスリン血症が元となり, 肝臓の脂肪化を亢進させると考えられている。つまり, インスリンにより肝細胞でのsterol regulatory element-binding protein-1c(SREBP-1c)を介する脂肪酸合成が高まるとともに, microsomal triglyceride transfer protein(MTP)の発言が抑制されると脂肪分泌が低下して細胞内に脂肪を蓄積させていくのである。Homeostasis model assessment-IR(HOMA-IR)は, 早朝空腹時血中インスリン値×血糖値/405で表される指標で, 空腹時血糖が126mg/dl以下の場合にクランプテストにおけるインスリン抵抗性と高い相関性が示されている。NASHの病勢を判断する上で大変有用である。これは1.6以下で正常, 2.5以上でインスリン抵抗性ありとされている。NASHでは早朝の空腹時でもインスリン値が高値を示すため(図8), 空腹時血糖は126mg/dlを超えることは少ないが, HOMA-IRは高値となる(図9)。高度のインスリン抵抗性

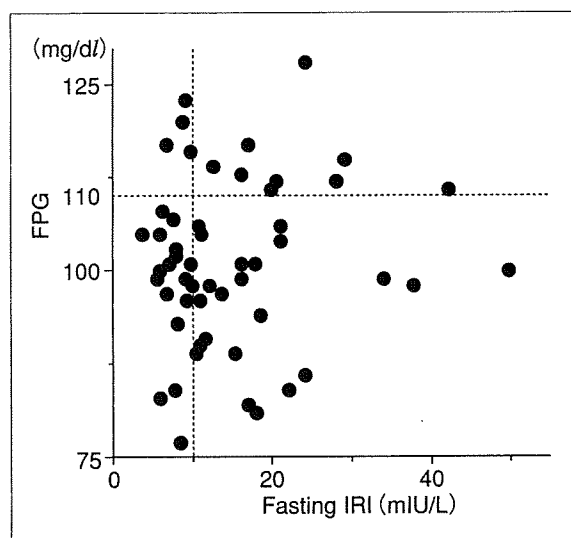


図8 空腹時血糖と血清インスリン濃度

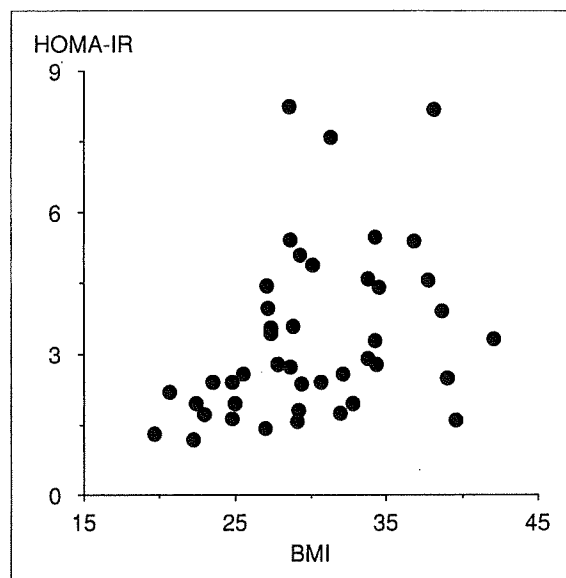


図9 NASHにおけるBMIとHOMA-IR

はNASHを特徴づける数少ない臨床検査の一つであり、NASHの病態を考える上で重視されている。

治 療

1. 肥 満 対 策

NAFLDに対する治療の原則は食事療法、運動療法による生活習慣の改善で、現在一番有効であるとされているのが体重を減少させることである。脂肪分の多い食事の是正とともに、食事エネルギーを減らすことが重要であり、インスリン抵抗性が発症や病態の進展に関与していることを考えれば糖尿病に準じた食事療法が効果的であると考えられる。しかし、実際には急に食事内容を変えるのは容易ではない。そこで近年欧米では肥満の治療に対して胃の縫縮術を受ける患者の数が激増している。最近、laparoscopic adjustable gastric banding (LAGB)を施行したNASH患者の肝障害の改善効果について報告がなされた。LAGBは胃上部に巻きつけたバンドにより胃の容積を減らし、食事摂取量を減らして肥満を改善する治療法である。それによると、体重減少に伴って肝の脂肪化の改善のみならず、炎症や線維化も改善されている。このことは、NAFLDの治療では減量をもっとも効果的であることを示唆するものである⁸⁾。

また、BMIが35以上の高度肥満者については、食欲抑制剤のmazindol(サノレックス®)は短期(3か月以内)に限り投与可能であり、われわれの経

験でも有効な症例が存在するため、試してみる価値があると思われる。

2. インスリン抵抗性改善剤：チアゾリジン誘導体(TZDs)

Thiazolidinediones(TZDs)は核内受容体である peroxisome proliferators activated receptor γ (PPAR γ) agonistでインスリン抵抗性改善剤として糖尿病に使用されている。現在のところpioglitazoneとrosiglitazoneの2剤が知られているが、本邦で発売されているのはpioglitazoneのみである。NAFLDの病態としてインスリン抵抗性との関連が重要であるため、NAFLDやNASHの治療としてこのTZDsが試みられてきた。TZDsの作用機序は、PPAR γ を介してアディポネクチン分泌を亢進させるとともに、脂肪細胞への脂肪の流入を増大させることにより肝臓への脂肪の流入を相対的に減少させ、さらにtumor necrosis factor- α (TNF- α)の分泌抑制、種々のアディポサイトカインの産生を抑制することで、インスリン抵抗性を改善するものと考えられている。NASHモデル動物へのpioglitazoneの投与により脂肪沈着、線維化の改善がされたという報告があり⁹⁾、さらに、NASH患者への投与でもトランスアミナーゼの改善のみならず、肝組織の改善を認めたと報告されている¹⁰⁾。過食に伴う体重増加や心不全対策の確立が必要であるが、NAFLD患者への治療効果が期待できる薬剤であり、欧米におけるコントロー

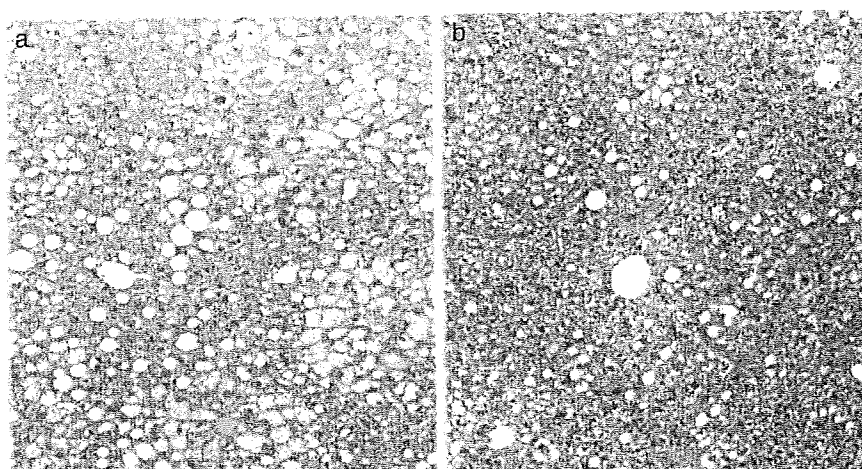


図10 Pitavastatin投与によるアロマターゼノックアウト(ArKO)マウスの肝脂肪化の改善

a : ArKO, b : ArKO + pitavastatin

ルスタディーの結果の発表が待ち遠しい。

3. その他治療

(1) ビグアナイド剤

ビグアナイド剤のmetforminもNASHの治療薬として注目されている薬剤の一つである。作用機序としては、肝細胞におけるAMPキナーゼの活性化によりacetyl-CoA carboxylase (ACC)が抑制され、その結果脂肪酸酸化を促進するとともに、脂肪酸合成を制御する転写因子のsterol regulatory element-binding protein (SREBP)の発現を抑制し、肝臓の脂肪蓄積を減少させると考えられている¹¹⁾。さらに、Marchesiniらは20名のNASH患者で行ったパイロット試験の結果、投与群では有意にALTの改善を認め、インスリン抵抗性も著明に改善したと報告しており¹²⁾、今後、糖尿病合併のNASH治療において使用されるケースが増えることも予想され、小児のNAFLDでのコントロールスタディーの成果が待たれる。

(2) ウルソデオキシコール酸 (UDCA)

ウイルス性肝障害などでの治療において使用されるウルソデオキシコール酸(UDCA)のNASHに対する有効性については評価が分かれており、今後の検討が待たれる¹³⁾¹⁴⁾。

(3) フィブラート系薬剤

フィブラート系薬剤はperoxisome proliferators activated receptor α (PPAR α) agonist薬で、脂肪酸の燃焼を促進させる。そのため高トリグリセリド血症やNAFLDに対して有効であるとの報告がみられる。とくに抗エストロゲン剤であ

るタモキシフェンによるNASHに対しては有効であると報告されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

(4) HMG-CoA reductase inhibitor

Atorvastatinは小規模研究ではあるが、NASHの改善をきたしたとの報告がある¹⁷⁾。また、われわれの研究では、pitavastatinをアロマターゼノックアウトマウス(ArKO)に投与した際、肝の脂肪化改善効果とともに血清および肝内のトリグリセリド濃度減少が確認された(図10)¹⁸⁾。これは、Pitavastatinが有しているとされるPPAR-活性化作用を介して脂肪酸 β 酸化が活性化されることによるものと考えられており、NAFLD患者においても脂肪酸 β 酸化が低下しているような症例では効果が期待できるかもしれない。

(5) アンギオテンシンII 1型受容体拮抗薬 (ARB)

NASHの線維化進展にアンギオテンシンが重要な役割を果たしていることが明らかとなっており、ARBを使用することによりNASHの改善効果が認めたとする報告がなされた¹⁹⁾。われわれの動物実験の結果からも、ARBによるNASH肝改善効果は、肝星細胞の活性化抑制作用を介する機序であることが明らかとなった²⁰⁾。このため、高血圧を合併したNASH症例に対してのARBの投与は、期待できる治療法の一つである。

(6) 肝移植

欧米ではNASHによる肝不全に対しても肝移植が行われている。術後、脂肪肝やNAFLDの再燃が知られているが、5~10年の生存率はほかの原因による生存率と同等であると報告されている²¹⁾。

おわりに

インスリン抵抗性やメタボリックシンドロームを背景病変としたNAFLDやNASHは、肥満人口の増加に伴って本邦でも今後ますます増加するものと考えられる。ここ数年のうちに成人のNASH罹患率が1%を超えると推定されている。

NASHから潜在性肝硬変・肝細胞癌への移行を阻止するには、わが国におけるこれらの発症頻度を理解するとともに、日常診療のみならず検診においてもしばしば遭遇する脂肪肝患者の中から、NASHを早期発見し治療することが必要不可欠である。

文 献

- 1) Ludwig J, Viggiano TR. Nonalcoholic steatohepatitis. *Mayo Clin Proc* 1980 ; 55 : 434-8.
- 2) Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2006 ; 43 (2 Suppl 1) : S99-112.
- 3) 日本肝臓学会・編. NASH・NAFLDの診療ガイド. 東京：文光堂；2006.
- 4) 西原利治, 大西三朗. NASHは決してまれではない. NASH診療—Up to Date症例に学ぶ. In：石井裕正, 大西三朗, 坪内博仁・編. 東京：南江堂；2004. p. 7-10.
- 5) 八辻 賢. NAFLDと性差. プライマリー・ケア医のためのNAFLDの診かた—非アルコール性脂肪性肝疾患への対応と最新知見—. 治療 2007 ; 89 : 1617-24.
- 6) Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis : Tightening the morphological screws on a hepatic Rambler. *Hepatology* 1995 ; 21 : 1742-3.
- 7) Kojima S, Watanabe N, Numata M, et al. Increase in the prevalence of fatty liver in Japan over the past 12 years : analysis of clinical background. *J Gastroenterology* 2003 ; 38 : 954-61.
- 8) Dixon JB, Bhathal PS, Hughes NR, et al. Nonalcoholic fatty liver disease : Improvement in liver histological analysis with weight loss. *Hepatology* 2004 ; 39 : 1647-54.
- 9) Kawaguchi K, Sakaida I, Tsuchiya M. Pioglitazone prevents hepatic steatosis, fibrosis, and enzyme-altered lesions in rat liver cirrhosis induced by a choline-deficient L-amino acid-defined diet. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 ; 315 : 187-95.
- 10) Chavez-Tapia NC, Barrientos-Gutierrez T, Uribe M. Pioglitazone in nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2007 ; 356 : 1067-8.
- 11) Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001 ; 108 : 1167-74.
- 12) Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, et al. Metformin in non-alcoholic steatohepatitis. *Lancet* 2001 ; 358 : 893-4.
- 13) Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis : a pilot study. *Hepatology* 1996 ; 23 : 1464-7.
- 14) Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis : results of a randomized trial. *Hepatology* 2004 ; 39 : 770-8.
- 15) Saibara T, Onishi S, Ogawa Y, et al. Bezafibrate for tamoxifen-induced non-alcoholic steatohepatitis. *Lancet* 1999 ; 353 : 1802.
- 16) Hamada N, Ogawa Y, Saibara T, et al. Toremifene-induced fatty liver and NASH in breast cancer patients with breast-conservation treatment. *Int J Oncol* 2000 ; 17 : 1119-23.
- 17) Kiyici M, Gulten M, Gurel S, et al. Ursodeoxycholic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Can J Gastroenterol* 2003 ; 17 : 713-8.
- 18) Egawa T, Nemoto Y, Ono M, et al. Pitavastatin ameliorates severe hepatic steatosis in aromatase-deficient (Ar-/-) mice. *Lipids* 2003 ; 38 : 519-23.
- 19) Yokohama S, Yoneda M, Haneda M, et al. Therapeutic efficacy of an angiotensin II receptor antagonist in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004 ; 40 : 1222-5.
- 20) Hirose A, Ono M, Saibara T, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits fibrosis in rat nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2007 ; 45 : 1375-81.
- 21) Contos MJ, Cales W, Sterling RK, et al. Development of nonalcoholic fatty liver disease after orthotopic liver transplantation for cryptogenic cirrhosis. *Liver Transpl* 2001 ; 7 : 363-73.

特集II NASH起因発癌のエビデンス

NASHモデル動物における 発癌リスク*

小野 正文**
小笠原 光成**
西原 利治**
大西 三朗**

Key Words : NASH, HCC, carcinogenesis, fibrosis, ROS

はじめに

非アルコール性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis: NASH)からの肝細胞癌(hepatocellular carcinoma: HCC)発症の報告が増加するにつれ, いわゆるcryptogenic cirrhosisやNASH肝硬変からのHCC発生のみならず, 非肝硬変からのHCC発生報告が増加している. B型肝炎やC型肝炎からのHCC発生については, ウイルスの関与が明らかであるものの, NASHでのHCC発癌のメカニズムについてはほとんど明らかになっていない. こういった理由から, 同メカニズム解明にはNASH患者の背景因子の検討のみならず, NASHモデル動物を用いた検討が重要である.

本稿では, HCC発生報告のある(表1)NASHモデル動物の背景および病態を解説するとともに, 発癌リスクについて各報告者のコメントも交えて概説したい.

遺伝子改変モデル動物

これまで数々の遺伝子改変NASHモデル動物が開発・報告された. その一部のモデル動物ではHCCの発生が確認され, NASHからの肝発癌解明に寄与するものと期待される. 本稿で紹介する

遺伝子改変NASHモデル動物を, NASHの発生機序から, ①肝内脂肪酸酸化能低下に関連するもの, ②肝臓からの中性脂肪排出障害に関連するもの, ③肝内脂質合成の亢進に関連するもの, ④その他の原因に関連するもの, に分類し概説する.

1. 肝内脂肪酸酸化能低下に関連するもの

(1) レチノイン受容体(RAR) α ドミナントネガティブ遺伝子トランスジェニックマウス(RARE Tgマウス)

RARE Tgマウスは, 4か月齢になると肝組織内に小滴性脂肪滴と, 好中球を中心とした炎症性細胞浸潤が認められ, 脂肪肝炎を発症する. 12か月齢を過ぎた頃からHCCが発生するが, さらに月齢が進むにつれてHCCの発生頻度は増加し, 18か月では27%のマウスにHCCの発生を確認したと報告されている¹⁾.

肝内脂肪酸代謝は, very long acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD), long acyl-CoA dehydrogenase (LCAD), 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (HCD)などのミトコンドリア脂肪酸 β 酸化酵素の発現低下を認める一方, acyl-CoA oxidase (AOX)などのペルオキシソーム脂肪酸 β 酸化酵素の発現亢進が観察された. さらに, PPAR- α の活性化に続きCYP4A10, CYP4A12, CYP4A14などのマイクロソーム脂肪酸 ω 酸化酵素が亢進し, それと同時に酸化ストレス(H_2O_2 , 8-OHdG)の亢

* The risk factors for hepatocarcinogenesis in animal models of NASH.

** Masafumi ONO, M.D., Ph.D., Mitsunari OGASAWARA, M.D., Toshiji SAIBARA, M.D., Ph.D. & Saburo ONISHI, M.D., Ph.D.: 高知大学医学部消化器内科学[〒783-8505 南国市岡豊町小蓮]; Department of Gastroenterology and Hepatology, Kochi Medical School, Nankoku 783-8505, JAPAN

表 1 NAFLD・NASHモデル動物の比較

	Obese	Insulin resistance	Inflammation	Fibrosis	ROS	HCC (発症時期weeks)
遺伝子改変モデル						
RARE Tg マウス	×	?	○	○	○	○ 48weeks
AOX KOマウス	×	?	○	○	○	○ 60weeks
Ar KOマウス	○	○	○	△	○	×
MATOマウス	○	×	○	○	○	○ 72weeks
PTEN KOマウス	×	×	○	○	○	○ 78weeks
SREBP-1c Tgマウス	×	○	○	○	○	×
Galectin-3 KOマウス	?	?	○	○	○	○ 100weeks
GNMT Tgマウス	?	?	×	○	?	○ 32weeks
自然発症モデル						
ob/obマウス	○	○	○	×	○	×
db/dbマウス	○	○	○	×	○	×
Zucker(fa/fa)ラット	○	○	○	×	○	×
FLSマウス	△	?	○	△	○	○ 60weeks
FLS-obマウス	○	?	○	○	○	○ 40weeks
食餌負荷モデル (CDAA diets)						
C57BL/6J マウス	×	×	○	○	○	○ 84weeks
Adipo KOマウス	×	×	○	○	○	○ 24weeks
Fischer 344 ラット	×	×	○	○	○	○ 24~52weeks
Zucker(fa/fa)ラット	△	○	○	×	○	×
薬剤投与モデル						
MSG投与マウス	○	○	○	○	?	○ 60weeks

Obese ; △ : ほぼ通常体型, Fibrosis ; △ : 軽度肝線維化

ROS : reactive oxygen species, HCC : hepatocellular carcinoma

進も認められる。また、PCNA染色、BrDUの取込みにて肝細胞の増殖を検討した結果、RARE Tgマウスでは有意に細胞増殖が活発であった。さらに、RARE Tgマウスに対し多量のレチノイン酸の投与を行ったところ、それらの改善が確認された。

以上のことから、レチノイン酸シグナルの欠如により脂肪酸酸化の亢進をきたし活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) の過剰発生、蓄積がDNA障害をひき起こし、HCCが発生するようになるのではないかと、Yanagitaniらは述べている。

(2) Acyl-CoA oxidase (AOX) ノックアウトマウス (AOX KOマウス)

AOX KOマウスは、脂肪肝の発生にひき続き10か月齢を過ぎた頃からHCCが発生するようになり、15か月齢ではすべてのAOX KOマウスにHCC発生が認められたと報告されている²⁾。AOXはペルオキシソーム系脂肪酸β酸化の律速酵素であるため、AOX KOマウスではペルオキシソ-

ムの脂肪酸β酸化が途中で寸断され、ペルオキシソーム内で分解されるべき極長鎖脂肪酸が肝細胞内に蓄積することが、肝脂肪化の主な原因と考えられている。このマウスでは、PPAR-αの活性化に伴い、CYP4A1、CYP4A3の発現亢進とROSの過剰発生が認められ、その過剰ROSがDNA障害をきたし、HCCが発生するのではないかとFanらは述べている。さらに彼らは、2~13か月齢の肝細胞ではすでに細胞分裂が盛んであり、その状態もHCC発生に寄与していると結論づけている。

さらに彼らは、亢進したPPAR-αのNASH発症への役割を明らかにするために、AOX/PPAR-αダブルノックアウトマウスを作製し検討を行っている³⁾。それによると、ダブルノックアウトマウスでは肝脂肪沈着は軽減しNASHは発症しなかった。このことから、AOX/PPAR-αダブルノックアウトマウスにおいては、PPAR-αの抑制はNASH発症に対し抑制的に作用したのであらうと述べている。

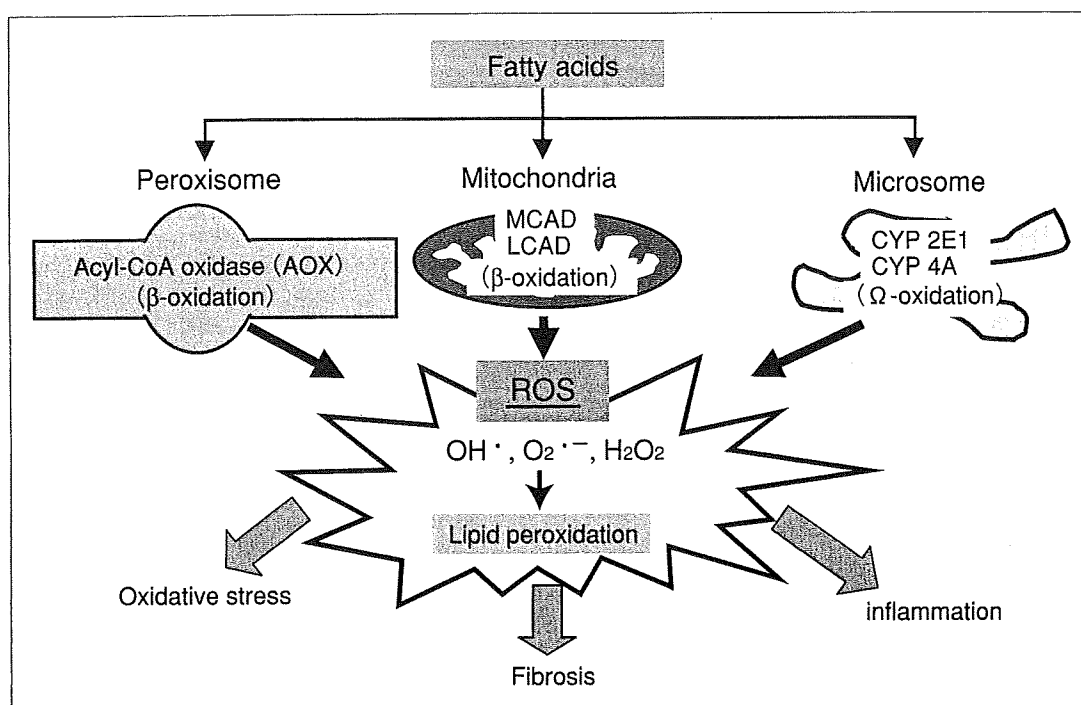


図1 肝内脂肪酸酸化と酸化ストレス
ROS : reactive oxygen species

以上のように、NASH発症のメカニズムにおいてPPAR- α は重要な役割を果たしていることが示唆される。

(3) Aromataseノックアウトマウス (ArKOマウス)

われわれのグループが作製しNASHモデル動物として報告したが、ArKOマウスは高度の脂肪肝をきたし肝内脂肪酸 β 酸化の高度の抑制を呈するのが特徴である⁴⁾。アロマトラーゼはエストロゲン合成の最終酵素であり、この酵素の欠乏状態はエストロゲン欠乏状態を招くためタモキシフェン服用乳癌患者によるエストロゲン欠乏状態ときわめて似た状態となる。同患者の約3分の1が非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) およびNASHを発症するため、この作用メカニズム解明のためにArKOマウスでの検討は非常に有用である。このマウスではMCADなどのミトコンドリア脂肪酸 β 酸化活性、AOX, VLACSなどのペルオキシソーム脂肪酸 β 酸化活性が低下しており、高度の脂肪肝から脂肪肝をきたすようになる。しかし、マイクロソームCYP4A1の異常亢進によると考えられる高度の酸化ストレス蓄積状態が確認されるが、線維化は軽度であり腫瘍発生も認められな

かった。

肝臓内の脂肪酸は主にミトコンドリア脂肪酸 β 酸化、ペルオキシソーム脂肪酸 β 酸化そしてマイクロソーム脂肪酸 ω 酸化により行われており (図1)、ArKOマウスは、上記で述べたRARE TgマウスやAOX KOマウスと同様にミトコンドリアもしくはペルオキシソームの脂肪酸 β 酸化の抑制とそれに伴うマイクロソーム脂肪酸 ω 酸化の亢進およびROSの亢進が認められる。しかし、上記2つのNASHモデル動物はHCCを発症するにもかかわらず、ArKO KOマウスではその発症が認められないことから、高度線維化進展の有無がHCC発生の重要な要因の一つであるのかもしれない。

2. 肝臓からの中性脂肪排出障害に関連するもの

(1) Methionine adenosyltransferase (MAT)-1A欠損マウス (MATOマウス)

MATOマウスは8か月の飼育で酸化ストレスや炎症を伴った脂肪肝を発症し、18か月齢にはHCCの発生を認める遺伝子改変モデル動物として報告された⁵⁾。Methionine adenosyltransferase (MAT) にはMAT-1AとMAT-2Aがあり、MAT-1Aは主に肝臓に発現しており、肝臓内のme-

thionineをS-adenosylmethionine (AdoMet)に変換する際に必要な酵素である。AdoMetは、VLDL合成に必須であるphosphatidylcholine(PC)に代謝されるため、AdoMetの欠乏により肝臓から中性脂肪が血中に排出されず、脂肪肝を誘発することになる。MATOマウスは高血糖を示し肥満をきたすものの、高インスリン血症を示さず、血中methionineは増加、肝内AdoMet発現は低下している。

さらに、AdoMetを投与することによりラットHCCの増殖を抑制し⁶⁾、培養に添加することで肝細胞のHGF mitogen活性を抑制する作用があることから⁷⁾、MATOマウスのHCC発生メカニズムとして、AdoMetの欠乏状態が肝発癌を増進したのではないかと述べている。

MATOマウスの肝脂肪化の機序はmethionine-choline deficient(MCD)食誘発NASHモデル動物と同様に、PC合成抑制に伴うVLDL分泌障害による肝内の中性脂肪蓄積が主な要因の一つである。ただ、MCD食誘発NASHモデル動物はlipodystrophyに伴う痩せが著明であるが、MATOマウスは肥満を伴う点で背景病態が異なっている。

3. 肝内脂質合成の亢進に関連するもの

(1) Phosphatase and tensin homolog (PTEN)

ノックアウトマウス (PTEN KOマウス)

PTEN KOマウスは10週齢までに肝細胞に大滴性脂肪滴を主体とした脂肪肝となり、その後脂肪肝炎を発症し、やがてはHCCを発症することが報告された⁸⁾。PTENはPIP3(phosphatidylinositol-3, 4, 5-triphosphate)を基質とする脱リン酸化酵素をコードする癌抑制遺伝子と考えられている。このマウスの肝臓では脂肪酸合成増進転写因子であるsterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c)およびfatty acid synthase (FAS)などのターゲット遺伝子の発現亢進が認められ、10週齢になると肝の脂肪化が進行する。また、PPAR- γ の発現増加に伴うadiponectinなどの発現増加がみられ、AOXなどの脂肪酸 β 酸化関連酵素の発現増加と、それに引き続くROSの産生増加がもたらされる。そして、40週齢ではMallory体や肝細胞ballooningと肝線維化が認められ、NASH特有の組織像を呈するようになる。この時期になると肝腺腫の発生を認めるマウスも出現し、74週齢に

なる頃にはHCCと診断される腫瘍性病変が発生するようになる。このモデルマウスでのHCC発症のメカニズムについて彼らは、肝臓に蓄積した酸化ストレスによる肝細胞のDNA障害とAktやERK活性化に起因する肝細胞の増殖能亢進が相加的、相乗的に作用したものであると考察している。

PTENノックアウトマウスの肝組織はNASH特有の組織像を示しているものの、NASH患者の特徴である肥満、インスリン抵抗性を示さない点を考慮しておく必要があるかもしれない。

(2) SREBP-1c トランスジェニックマウス (SREBP-1c Tg マウス)

インスリン抵抗性を示すNASH動物モデルとして、脂肪細胞特異的転写因子によるSREBP-1c トランスジェニックマウスが作製、報告された。このマウスのSREBP-1cは脂肪細胞で過剰発現し遺伝的脂肪萎縮を呈しており、強いインスリン抵抗性、糖尿病を発症する⁹⁾。強い脂肪萎縮のために、生後8日目には肝臓に脂肪沈着が生じるようになる。さらに、20週齢になるとlobular inflammationや中心静脈域を中心とした著明な線維化と、Mallory体や肝細胞ballooningも認めるようになる¹⁰⁾。このように肝組織のみならずインスリン抵抗性など、NASH特有の特徴を有するが、脂肪萎縮の存在のためか、血中レプチン、アデポネクチンは低値であり、肥満をきたさないなど多くの点でNASH患者の特徴とは異なっているため、SREBP-1c Tg マウスは脂肪異常栄養症に伴うNASHモデル動物として重要である。また、このマウスの肝臓は線維化と強い酸化ストレスの存在が明らかであるが、HCCの発生は報告されておらず、代表的なHCC非発生モデル動物の一つとして有用であるかもしれない。

4. その他の原因に関連するもの

(1) Galectin-3 (β -galactoside-binding animal lectin) ノックアウトマウス (Gal3 KOマウス)

Gal3 KOマウスは、6か月齢頃からMallory体、肝細胞ballooningを伴った炎症および線維化進展を伴うNASH特有の肝組織像を示すようになり、15か月齢を過ぎると肝臓に腫瘍性病変が出現するようになる。さらに、25か月齢になると組織学的にHCCと確認できるようになったと報告された¹¹⁾。

Galectin-3は β -ガラクトシドと結合する動物レクチンファミリーの一つで、増殖する線維芽細胞の核内に発現し腫瘍細胞への転換とともにその発現が高まる。正常の成人肝細胞にはgalectin-3の発現は認められないが、Kupffer細胞では局在が認められ、肝星細胞の活性化および肝線維化に伴って増加し、肝硬変やHCCでは核内に分布が認められる。さらに、galectin-3には抗アポトーシス作用があり¹²⁾、細胞内蛋白と相互作用して細胞増殖を制御する過程にも関連していることが明らかにされている。

Gal3 KOマウスでは、肝内のSREBP-1の発現は亢進していないが、2か月齢からPPAR- γ 遺伝子発現やgalectin-3との結合蛋白であるadvanced glycation end-products(AGE)、およびその受容体であるreceptor for advanced glycation end products(RAGE)の発現量が亢進している状態が観察され、これらの活性化状態を介した肝の脂肪化進展機序が想定されている。さらに、HCCの発生機序としては、galectin-3遺伝子欠如による直接的なものではなく、NASH自体の進展が基礎的要因となり、肝発癌を増進したのではないかと結論づけている。

(2) Glycine *N*-methyltransferase (GNMT) ノックアウトマウス (GNMT KOマウス)

Glycine *N*-methyltransferase (GNMT)は肝臓内に存在するもっとも豊富なmethyltransferaseで、肝臓に蓄積した過剰なS-adenosylmethionine (AdoMet)をS-adenosylhomocysteineに異化する主要な酵素であるが、その欠損マウス(GNMT KOマウス)の肝臓は脂肪沈着と線維化をきたし、やがてはHCCの発生をきたすということが最近明らかとなった¹³⁾。GNMT KOマウスは3か月齢になると肝の脂肪化と線維化が認められるようになり、8か月齢になるとそれが高度になってくるが、炎症細胞浸潤はこの時期になっても認められず、肝組織もNASHとは異なった像を呈するものの、8か月齢になるとHCCの発生を認めるようになると報告されている。

肝臓でのGNMT発現はHCCで消失するが¹⁴⁾、GNMT KOマウスではRasやJAK/STATの活性化、およびDNAやhistonの過剰なメチル化などのエピジェネティックな変化が発癌に寄与していると

彼らは述べている¹⁵⁾。

以上のようにGNMT KOマウスは、いわゆるNASHからのHCC発癌とは異なっているが、HCC発生前に肝臓が脂肪化を呈するという意味では重要なモデル動物と言えそうである。C型慢性肝炎でも高率に肝脂肪化をきたしHCC発癌の前癌状態を作り出しているとされていることから、ROS産生亢進のみならず、肝の脂肪化そのものが前癌病変とみなす必要があるのかもしれない。事実、Diehlらはob/obマウスの実験で、脂肪化した肝臓では細胞増殖能が増加しており、肝脂肪化自体が前癌状態である可能性を示唆している¹⁶⁾。

自然発症モデル動物

NASH自然発症モデル動物として代表的なものは、表1に示すようなob/obマウスをはじめとしたレプチン欠乏およびレプチン受容体変異によるレプチン作用障害に基づくものである。そのどれもが肝の線維化進展を認めず、HCC発生も認めないことから、本稿ではその説明を割愛し、NASHからHCC発症を認めるFLSマウスについて概説する。

1. Fatty liver Shionogi (FLS) マウス

FLSマウスは自然発生脂肪肝モデル動物として知られており、肥満や糖尿病を呈さないが、生後間もなくから肝臓に中性脂肪の沈着を生じるようになり、15か月齢になると肝細胞が大きな脂肪滴で占められるようになる。そして、生後1年を経ると、adenomaやHCCの発生を認めるようになる¹⁷⁾。非癌部肝組織は、大滴性脂肪滴と炎症性細胞浸潤を認めるものの、どのマウスも肝硬変など高度の線維化進展は生じない。HCC発症の要因として、肝の高度な脂肪化が肝内の酸化ストレスの増加をきたし、それがDNAダメージを惹起して肝発癌につながっているのだろう、と考察している。

また、別のグループからの報告では、生後15～16か月のオスの40%にHCCの発生が確認された¹⁸⁾。肝腫瘍発生以前の24～52週齢において、hepatoma-derived growth factor (HDGF)の発現が徐々に増加することが明らかとなった。HDGFは肝細胞の増殖を刺激する作用を有しているこ

とから、この因子の発現増加がHCC発生において重要な役割をはたしているのではないかと考察している。

さらに、肥満遺伝子(ob)に変異のあるFLS-obマウスでは、FLSマウスと比べて著明な体重増加を認め、肝細胞の脂肪沈着、肝線維化、酸化ストレスともに高度であることが報告された¹⁹⁾。さらに、HCCの発生もFLSが約60週齢であるのに対し、FLS-obはそれよりも早期の40週齢で10匹中4匹に計6結節のHCC発生が観察されたと報告された²⁰⁾。この報告から、脂肪沈着、肝線維化、酸化ストレスがともに強い状態であるFLS-obマウスの方がより早期から肝発癌を生じることを示唆しており注目される報告である。

以上のように、FLSマウスは非常にユニークなNASHモデルマウスであると考えられるが、遺伝的背景や肝脂肪化のメカニズムが明らかとなっていないことから、今後遺伝的検討が期待される。

食餌負荷モデル動物

これまで、ラットやマウスをコリン欠乏アミノ酸置換食(CDAA)で飼育することにより、NASHモデル動物を作製できることは知られており、これまで多くの報告がある。C57BL/6マウスをCDAAにより長期に飼育することで、脂肪肝からHCCが発症することが報告された²¹⁾。飼育開始22週目で、肝臓に高度の脂肪化と線維化、8-OHdGの増加も認め、84週目では肝臓にadenomaやHCCを認めるようになったと報告している。彼らは、HCC発生の要因として、酸化ストレスによるDNA障害と肝線維化進展の重要性を指摘している。

その後、さまざまなstrainのマウスやラットを用いたCDAA食誘発NASHからのHCC発生の検討、報告がなされており(表1)、その中から筆者が注目した報告について、その要旨を紹介する。

1. CDAA食誘発NASHからのHCC発症におけるAdiponectinの役割

Adiponectinは、肥満、糖尿病をはじめとしたメタボリック症候群発症に重要な役割を果たす代表的なadipocytokineの一つであるが、Adiponectinノックアウトマウス(AdipoKOマウス)では、CDAA食誘発NASHの肝組織の増悪が認め

られたとKamadaらは報告している²²⁾。すなわち、AdipoKOマウスはコントロールマウスに比べ早期から肝の脂肪化、線維化をきたし、CYP2E1および酸化ストレス(TBARSおよび8-OHdG)がより亢進しており、24週を過ぎると肝臓にはadenomaを認めるようになった。

Adiponectinはob/obマウスのNASH肝組織を改善する作用があり²³⁾、NASH患者でも血中adiponectin濃度や肝臓内adiponectin 2型受容体(AdipoR2)発現が低下していることが明らかにされ²⁴⁾、NASHの病状進展抑制に重要な役割を果たしている。AdipoKOマウスは、普通食飼育ではNASHを発症しないが、CDAA食などのNASH誘発刺激に対しては肝病変の進展と肝腫瘍発生に対して増進効果があることは非常に興味深い点である。しかし、今回の報告ではHCC発症まで観察されておらず、HCC発症にadiponectinがどのように関わっているのかを明らかにするためには、今後さらなる継続した研究成果が期待される。

2. CDAA食誘発NASHからのHCC発症におけるレプチンおよび肝線維化の重要性

Kitadeらは、肝線維化進展がHCC発生に重要であることをZuckerラットを用いて証明している²⁵⁾。Zuckerラットはレプチン受容体に変異がありレプチン作用を欠如するが、このラットにCDAA食を与えて飼育した場合、コントロールラットと同様に肝脂肪沈着を認めるものの、Zuckerラットでは肝の線維化進展は完全に抑制されており、酸化ストレスもコントロールラットに比べ軽度であった。さらに、飼育開始80週目でCDAA食飼育コントロール群ではHCCの発生を認めたにもかかわらず、Zuckerラットでは腫瘍の発生は認めなかった。彼らは、肝の線維化進展とHCC発生にはレプチン刺激を介したvascular endothelial growth factor (VEGF)などのneovascularizationが重要であると述べている。レプチン欠乏動物では肝の線維化が完全に抑制されることから、肝の線維化にはレプチンの役割が重要であることは以前から知られていた。このため、レプチン刺激を抑制したZuckerラットをCDAA食で飼育してもHCCが発生しないことから、発癌には肝の線維化進展が重要な一因であるということを示した点で非