

論文内容の要旨

論文提出者氏名 岡田 頼久

論文題目

Rosuvastatin Ameliorates High Fat and High Cholesterol Diet-Induced Nonalcoholic Steatohepatitis in Rats

論文内容の要旨

NAFLD は肝臓で一般的な疾患の一つであるが、肥満、高脂血症、インスリン抵抗性を伴うメタボリック症候群と密接に関わっており、2型糖尿病合併の NAFLD 患者において心血管病 (CVD) のリスクが増大することが報告されている。高脂血症患者に対して LDL 低下目的にスタチンが使用されるが、副次的に冠血管イベントの発生あるいは死亡の低下につながることを示されており、脂質低下以外に抗炎症、抗酸化作用により血栓形成を抑制し動脈硬化を予防すると考えられている。スタチンはまた脂質低下とは独立して抗線維化作用を有することが報告されており、肝臓に関して言えば TGF β 、CTGF、PDGF などの線維化関連サイトカインを抑制し、肝星細胞の増殖抑制やアポトーシスを介して活動性を抑えると報告されている。以上から今回我々は高脂肪高コレステロール食(HFHC)負荷ラット NASH モデルにおいて、スタチンの抗炎症、抗酸化、抗線維化作用について検討した。

まず我々は HE 染色及びオイルレッド染色、肝重量/BW 比、肝中性脂肪レベルで肝の脂肪化を評価した。HFHC 負荷によりラットの肝臓に脂肪化が生じるが、rosuvastatin の投与によりその蓄積が改善する。肝重量/BW が rosuvastatin 投与群で低下し、肝中性脂肪及び遊離コレステロールレベルは改善傾向を認めた。血液検査では血清中性脂肪は変化を認めないが、血清総コレステロールが低下していた。

続いて肝脂肪化が改善したメカニズムを調べるため、脂質関連遺伝子 mRNA(SREBP1,2、FAS、ACC1、LDL-R、MTP1 など)を評価した。HFHC 群で、SREBP1c、FAS、ACC1 が発現亢進する一方で、MTP1、ACO の発現は低下し、SREBP2 は変化を認めず、LDL-R はむしろ低下した。HFHC 負荷による肝脂質の蓄積は、LDL コレステロールの取り込み増加によるものではなく、脂質合成遺伝子の発現亢進や VLDL 関連遺伝子の発現低下によるものと考えられた。Rosuvastatin の投与では多くの因子で差を認めなかったが、SREBP1c の発現が低下しており、脂質合成の抑制が関与している可能性が示唆された。

肝障害関連の因子の検討では、HFHC 負荷により肝 TNF α 、IL6 及び血清 ALT は上昇しており、rosuvastatin 投与によってこれらは抑制されていた。組織での炎症の評価でも同様の結果が得られ、rosuvastatin は肝障害を

改善させると考えられる。

肝線維化に関しては、線維化関連遺伝子の mRNA を評価した。HFHC 群では TGF β 、CTGF、1 型コラーゲンの mRNA が著明に増加しており、rosuvastatin はそれらを抑制していた。さらに、シリウスレッド染色、 α SMA 染色でも rosuvastatin 投与にて線維化の改善を認めた。

肝障害及び線維化改善のメカニズムを調べるため、肝遊離脂肪酸(FFA)及び脂肪毒性のマーカーを評価した。肝 FFA はスタチン投与により減少し、肝 8OHdG、4HNE の蓄積も改善させたことから、ROS 由来の DNA 障害が抑えられたものと考えられた。引き続き、肝におけるミトコンドリア、ペルオキシゾーム β 酸化関連遺伝子 (CPT1、LCAD、ACO、カタラーゼ) の評価では rosuvastatin の投与で ACO 及びカタラーゼの発現は増加しており、カタラーゼの ELISA でも同様であった。これらを総合すると、rosuvastatin はカタラーゼの発現を介し、ペルオキシゾームの β 酸化を活性化させることで脂肪毒性を軽減させている可能性が示唆された。

スタチンは一般に高脂血症や冠血管障害患者に対し使用され、これまでに血清脂質、ALT 値を低下させる報告はみられるが、NAFLD の組織を改善させるかどうかは明らかにはされていない。今回の検討では、脂肪化、炎症反応、線維化という 3 つの大きな特徴において rosuvastatin が NAFLD を改善させる事を示した。

NAFLD 患者では高コレステロール血症にも関わらず、LXR によって肝での SREBP1c の発現は亢進したままとなっており、結果として肝内への脂質蓄積、ROS 産生が生じている。コレステロールの代謝異常により NAFLD の病態がより進行する可能性があるため、HMGCoA 還元酵素をスタチンで阻害することにより、コレステロールの代謝異常を是正し、潜在的に毒性である遊離コレステロールから肝臓を保護できる。

スタチンの抗炎症、抗酸化作用はこれまでも報告されてきた。スタチンはメバロン酸由来の分子を低下させることで、Ras、Rho、Rab、Ran スーパーファミリーの活性化も抑制するが、これらは内皮細胞、平滑筋細胞、線維芽細胞、マクロファージなどの増殖とアポトーシスに関わる分子である。

スタチンはまた多くの臓器において抗線維化作用が報告されており、アンギオテンシン II/Smad 経路、TGF β に関連する経路を抑制する。また肝においては肝星細胞にアポトーシスを起こし線維化を抑制する報告も見られる。今回の検討でも TGF β 、CTGF などのサイトカインの発現低下、肝線維化の改善を認めた。

今回の結果及びこれまでの知見から、rosuvastatin は酸化ストレス、肝脂肪化、炎症、線維化を抑制すると考えられた。