

NASH病態進展におけるエンドトキシンの役割の解明

横浜市立大学附属病院 消化器内科
今城 健人

1. はじめに

動脈硬化は血管局所及び全身の慢性炎症が関与することが知られているが⁽¹⁾、メタボリック症候群の病態でも脂肪組織へのマクロファージの浸潤が関与することが明らかとなっており、代謝疾患も全身の慢性炎症という概念が定着しつつある⁽²⁾。また、内臓脂肪が肝臓へ沈着した病態である非アルコール性脂肪肝疾患(nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD)はメタボリック症候群における肝の表現型として注目されている。NAFLDの一部は肝臓に炎症を惹起し、非アルコール性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis : NASH)に至る。NASHもまた動脈硬化や慢性腎臓病のように慢性持続性の炎症によるものと考えられ、軽微な異常反応が多段階に継続して進行することにより形成されると考えられる。このような慢性炎症には腸管由来のエンドトキシンが関与することが予測されている。エンドトキシン-NASHの分野に関しては、肥満者では腸管内における細菌の異常増殖が生じ、エンドトキシンの絶対量増加による炎症がNASH進展に関与すると信じられてきた⁽³⁾。しかし、門脈中エンドトキシン量は肥満者においてもせいぜい健常者の二倍程度でありこの現象のみではNASH病態を説明することはできない。ここで我々は脂肪肝ではエンドトキシンに対する反応性が正常肝とは異なるという仮説を立て、高脂肪食飼育下脂肪肝モデルマウスを用いて検討したところ、肥満に伴う脂肪肝ではレプチン-STAT3シグナルを介して肝Kupffer細胞にエンドトキシンの共受容体であるCD14を高発現させ、正常肝に比べてエンドトキシン反応性を亢進することを示した。即ち、正常肝では炎症を起こさない程度の低量エンドトキシンに対しても脂肪肝では過剰な炎症が惹起されることで肝障害をきたし、NASH病態進展を来すことを報告した⁽⁴⁾。肥満者におけるこのエンドトキシン過剰応答機序はインスリン抵抗性惹起のkey factorとなる可能性がある。しかしながら、ヒト肝臓で曝露されるエンドトキシン量は我々のマウスモデルに比し極めて微量であり、生理的ヒトNASH病態を説明するにはさらに微量のエンドトキシンを用いた検討が必要である。微量エンドトキシンではいかに脂肪肝で過剰応答が生じたとしても肝障害をきたすほどの炎症は生じない。即ち、ヒトではエンドトキシン過剰応答による炎症以外にもさらなる病態進展因子が存在すると考える。我々は、微量Lipopolysaccharide (LPS) 投与マウスにおける網羅的遺伝子解析により、この病態進展には脂質代謝を律速するMTTP (Microsomal Triacylglyceride transfer protein) が関与すると考えている。事実、我々は以前にヒトNASHにおいて単純性脂肪肝に比し肝MTTP発現が低下していることを報告した⁽⁵⁾。今回の研究では、エンドトキシン過剰応答がもたらす肝MTTP低下によるNASH病態進展機序を解明する。

2. 方法

(1) (in vitro) 肝細胞の細胞株であるHepG2細胞を用いて炎症性サイトカイン添加後のMTTP発現を検討した。

(2) (in vivo) 12週間の普通食及び高脂肪食飼育下wild type (WT) マウスに対し、一回投与では肝障害が惹起されない、超微量の大腸菌由来Lipopolysaccharide (LPS : 0.001~0.01mg/kg) を投与し、肝MTTP発現を検討した。さらに、12週間高脂肪食飼育下WTマウスに対して超微量LPS (0.01mg/kg) を8週間連日腹腔内投与し肝障害が惹起されるかを検討した。

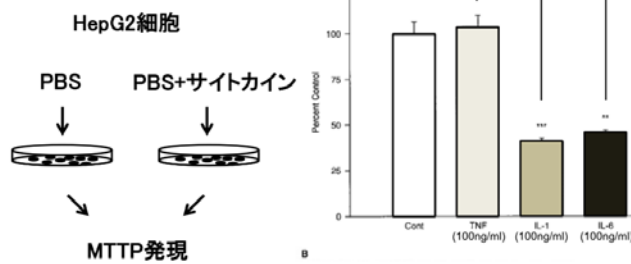
(3) (in vivo) MTTP低下が肝臓に及ぼす影響を検討するために、肝細胞特異的MTTPノックアウトマウス (Alb-Cre+/MTPf1/f1マウス) を作成した。同マウスへ高脂肪食を28日間投与し、肝障害が惹起されるかを検討した。さらに、同マウスへ高脂肪食を12週間投与し、肝線維化が惹起されるかを検討した。コントロールとしてAlb-Cre-/MTPf1/f1マウスを使用した。

3. 結果 研究成果

(1) HepG2細胞では炎症性サイトカイン (TNF α , IL-1, IL-6) 添加によりMTTP発現が低下するとともに細胞内脂肪蓄積を誘導した。

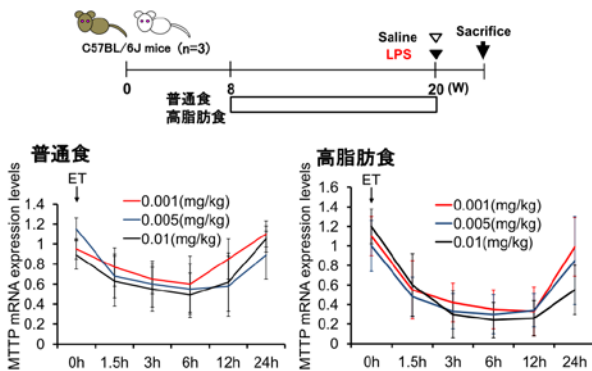
炎症性サイトカインによるMTTP発現低下:

In vitro: Hep G2 cell

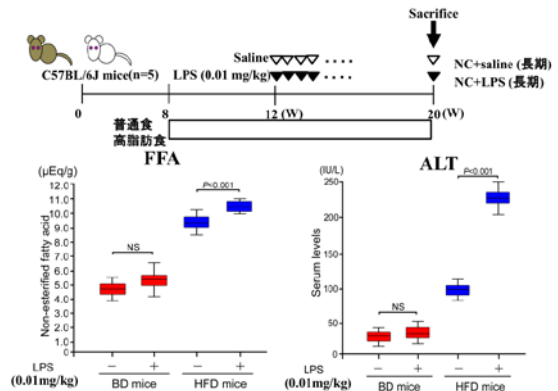


(2) 超低量LPS一回投与では普通食及び高脂肪飼育下WTマウスの肝MTTPを著明に低下させた。また、高脂肪飼育下WTマウスへ超低量LPSを8週間連日投与するとPBSを投与した同マウスに比し肝内遊離脂肪酸 (free fatty acid: FFA) が増加し、有意に肝障害が増悪した。

超低量ETによるMTTP発現低下: *In vivo*

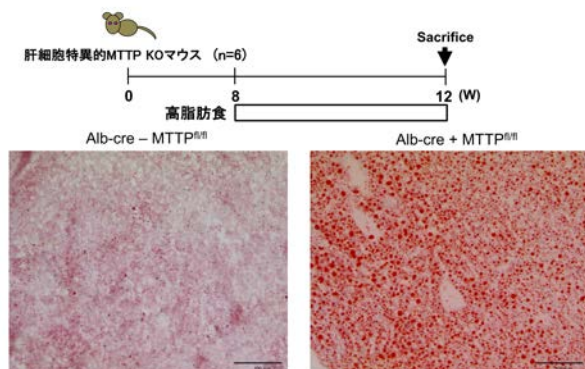


超低量ETによる脂肪酸増加及び肝障害

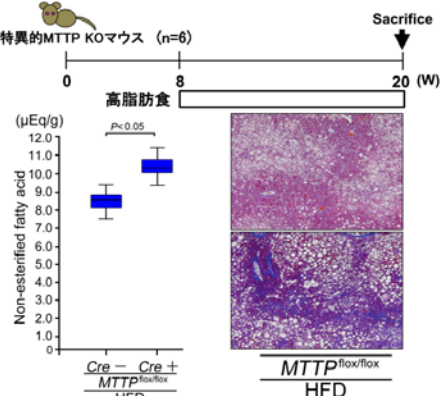


(3) 肝細胞特異的MTTPノックアウトマウスは高脂肪飼育によりコントロールと比し有意に肝内脂肪蓄積が増加及び肝障害を増悪させ、さらには肝内FFA増加と共に肝線維化が惹起された。

肝細胞特異的MTTPノックアウトマウス: 脂肪蓄積評価: oil red染色



肝細胞特異的MTTPノックアウトマウス: FFA蓄積及び線維化評価

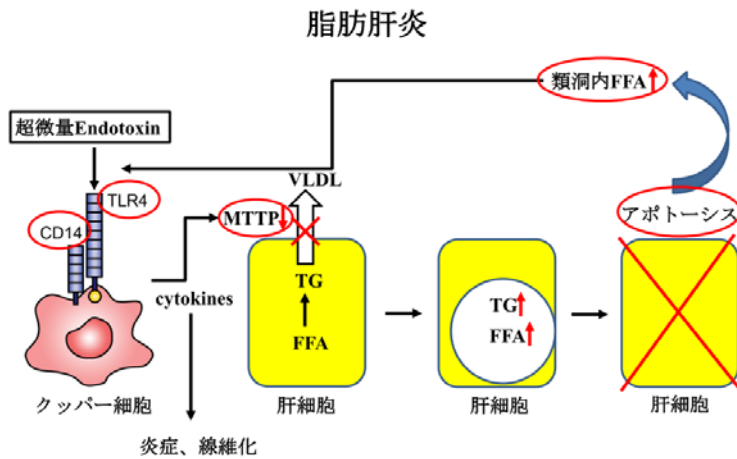


4. 考察 まとめ

超低量の腸管由来エンドトキシンであっても、感受性亢進により炎症性サイトカインが増加し、肝MTTPが抑制されることで肝脂質代謝障害が惹起され、肝内に中性脂肪及びFFAが増加し、肝細胞のアポトーシスを誘導することで脂肪肝炎病態を進展させる可能性が示唆された。肥満によるエンドトキシン感受性亢進が契機となり、微量のエンドトキシンであっても脂質代謝障害を介してNASH病態を進展させる可能性が示唆された。



超微量ETによるNASH進展機序の仮説



5. 発表論文、参考文献

1. Ross R. Mechanisms of Disease: Atherosclerosis- An Inflammatory Disease. N Engl J Med. 340; S115-126, 1999.
2. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress and diabetes. J Clin Invest. 115; 1111-1119, 2005.
3. Miele L, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 49(6);1877-87, 2009.
4. Imajo K, et al. Hyperresponsivity to low-dose endotoxin during progression to nonalcoholic steatohepatitis is regulated by leptin-mediated signaling. Cell Metab. 16 ;44-54, 2012.
5. Fujita, et al. Dysfunctional very-low-density lipoprotein synthesis and release is a key factor in nonalcoholic steatohepatitis pathogenesis. Hepatology. 50(3); 772-80, 2009.