

我々が確立した非アルコール性脂肪肝炎動物モデルの汎用化に向けて

研究期間 平成 30 年度

研究代表者名 大曲勝久

共同研究者名 なし

1. はじめに

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の有病率は世界的に増加している。NAFLD の中には、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）のように潜在的に肝硬変に進展するような進行性の経過を辿ることがある。年齢（加齢）は NAFLD や NASH の発症や進展と強く関連しているが、小児の NAFLD の自然経過はよく分かっていない。

我々の研究室では、9 週齢雄性 SD ラットにコール酸とコレステロールを加えた高脂肪食を与えるとわずか 9～18 週間で高度な肝線維化を伴う NASH を発症することを報告した（Hepatol Res 2015、J Nutr Biochem 2017）。我々が確立した上記のラットモデルは 9 週齢からの給餌モデルであるが、給餌開始時期を変えても同様な病変を発現できるのかを検討することにより、NASH 発症モデルの汎用化に繋げるとともに、年齢（加齢）と NAFLD や NASH の発症や進展との関連を明らかにすることができる。本研究では、9 週齢の雄性 SD ラットに加えて、5 週齢および 13 週齢ラットにも上記の餌を与え検討した。

2. 研究内容

5、9、13 週齢雄性 SD ラットをそれぞれ S 群（6 匹）、M 群（6 匹）、L 群（6 匹）とし、脂肪エネルギー比 57% を含む高脂肪・高コレステロール（HFC）食（MF 飼料 69%、パーム油 28.75%、コレステロール 1.25%、コール酸 0.5%）を 9 週間摂取させ、その後、採取した血清および肝臓組織を用いて血液・生化学的マーカーおよび肝臓内の中性脂肪やコレステロール量、酸化ストレスや脂質代謝、炎症、線維化に関連する酵素の mRNA 発現量を測定した。なお、本実験は「長崎県立大学動物実験規程」ならびに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成 18 年 4 月 28 日環境省告示第 88 号）」に則して長崎県立大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

3. 研究成果

終体重や総摂取エネルギー量、肝臓重量/体重比、睾丸周囲脂肪重量/体重比は S 群、M 群、L 群の 3 群間に有意差はみられなかった。飼育期間中の体重増加量と食餌効率は S 群が有意に高値であった。血清トリグリセリド、総コレステロール、グルコース、インスリン、インスリン抵抗性指標、レプチン、ALT、AST、遊離脂肪酸、肝臓トリグリセリドおよび総コレステロール濃度は 3 群間に有意差はみられなかったが、血清ア

ディポネクチン濃度は S 群が他の 2 群と比較して有意に高値であった。

病理組織学的検討では、NAS スコアに基づく NASH の判定において 3 群ともに 67～83% のラットが NASH と判定された。脂肪沈着や小葉内炎症、肝細胞の風船様腫大、NASH の判定スコアの基となる NAS スコア、NAS スコアに基づく NASH の判定結果は 3 群間に有意な差はみられなかった。また、肝線維化は全てのラットにみられ、L 群は M 群よりも線維化スコアが高いラットが多かった。

PCR 法による肝組織中の mRNA 発現量では、肝線維化の指標である TGF- β 、炎症の指標である NF- κ B、酸化ストレスの指標である HO-1 や Mn-SOD において週齢が遅い方が有意に高値であった。また、肝線維化の指標である α -SMA、炎症の指標である IL-1 β 、酸化ストレスの指標である GPX-1、脂肪酸代謝の指標である FAS や GPAT1 の mRNA 発現量も有意差はなかったものの週齢の遅い方が高い傾向にあった。

4. おわりに

以上のことから、5 週齢、9 週齢、13 週齢のいずれの週齢から HFC 食を 9 週間与えても NASH モデルを作成できることが明らかになった。また、有意差はみられなかったものの、成年期以降の高脂肪・高コレステロール食といった食習慣が若年期からの食習慣よりも NASH を発症しやすいと考えられた。今回は 3 群ともに同じ期間（9 週間）HFC 食を与えたが、実際の臨床では若年期からの食習慣は成年期以降からの食習慣よりも長期にわたるため、同じ年齢では若年期から HFC 食を摂取し続けた方が NASH の発症リスクは高くなると推測できる。今後は飼育期間の延長や餌の脂肪、コレステロール含有量を多くすることなどにより、どの週齢が NASH の発症・進展により強く影響を及ぼすのかさらに詳しく検討を行う必要があると考える。

4. 注記

本研究の内容は、英文の学術論文にまとめ、学術雑誌に投稿中である。