

# SHRSP5/Dmcrの高脂肪・高コレステロール飼料による肝線維化進展時の胆汁酸動態の変化

名古屋大学大学院医学系研究科 環境労働衛生学  
中部大学生命健康科学部

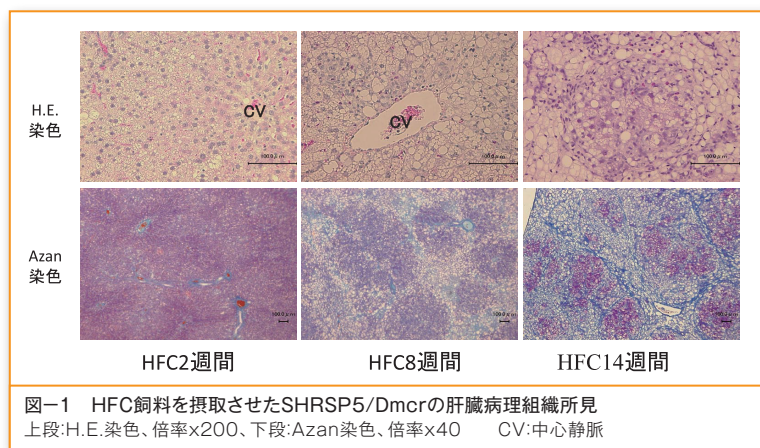
内藤久雄  
那須民江

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)<sup>1)</sup>は単純性脂肪肝 (NAFL) から肝炎・線維症・肝硬変に進展する非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)<sup>2)</sup>を含む病態である。飲酒歴がないにもかかわらず、組織所見としてアルコール性肝障害に類似した進展を示す疾患概念である。NASH患者の多くは糖尿病、肥満、高脂血症など、いわゆる生活習慣病の合併を高頻度に認めるため、メタボリックシンドロームの一つの表現形でもある。従って、通常肝障害のため肝臓内科を訪れることは少なく、糖尿病内科を受診するケースが多いとも言われている。

SHRSP5/Dmcrは脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP/Izm) の垂系統である。高脂肪・高コレステロール (HFC) 飼料を2週間摂取することにより、脂肪の蓄積と肝炎、8週間摂取で線維化、さらに14週間摂取で蜂の巣状線維化像を認めるまでに進展する (図-1)<sup>3)</sup>。血清総コレステロール値が増加し、さらに肝臓内総コレステロール値の著明な増加を認める。コレステロールは肝臓内で胆汁酸に異化され、主に胆管に胆汁の主成分として排泄される。しかし、肝線維化進展により、胆汁うっ滞の指標である血清 $\gamma$ -GTP値が増加しており、胆管排泄障害が起きていることが考えられる。

本稿では、HFC飼料摂取による肝障害とHFCの重要な成分でもあるコレステロール及びその代謝産物で、毒性がある胆汁酸動態<sup>4)</sup>とそれに関わる蛋白発現量を測定した結果<sup>5)</sup>との関連について報告する。

本稿では、HFC飼料摂取による肝障害とHFCの重要な成分でもあるコレステロール及びその代謝産物で、毒性がある胆汁酸動態<sup>4)</sup>とそれに関わる蛋白発現量を測定した結果<sup>5)</sup>との関連について報告する。

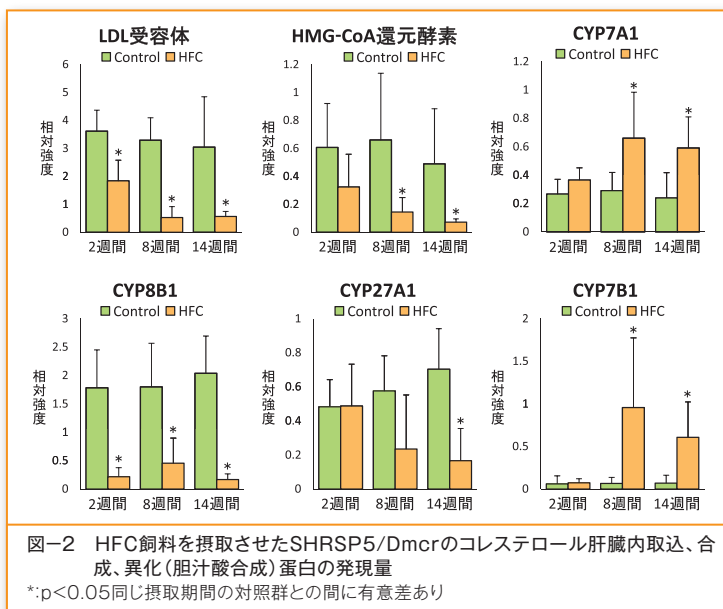


## 【実験方法】

金城学院大学実験動物教育研究施設で、10週齢のSHRSP5/Dmcrに、HFC及びコントロール食としてSP飼料を各々2、8、14週間摂取させ、麻酔下で肝臓を採取し、凍結保存した (各群6匹)。肝臓を用いて、コレステロール・胆汁酸動態に関連する蛋白発現量をWestern Blot法で測定した。胆汁酸排泄に関わるUDPグルクロン酸転移酵素 (UGT) 活性は肝ミクロソーム分画を用い、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した<sup>6)</sup>。肝臓内各種胆汁酸量は超高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 (UPLC/MS/MS) で測定した<sup>7)</sup>。

## 【結果】

コレステロールの肝臓内取り込みに関与する低リポ蛋白 (LDL) 受容体はHFC2週間摂取以降、肝臓内のコレステロール合成の律側酵素であるHMG-CoA還元酵素は8週間以降からそれぞれ発現が低下し (図-2)、肝臓内でのコレステロールの蓄積低下が推察された。しかし、HFC2週間摂取後、すでに肝臓内総コレステロール量は著明に増加しており、肝臓外への排泄が抑制されていると考えられた。コレステロールから胆汁酸合成の律側酵素であるシトクロムP450 (CYP) 7A1は、8週間摂取以降から増加したが、胆汁酸の胆管排泄輸送体である



Bile salt export pump (BSEP)は、2週間摂取以降から発現が低下した(図-3)。一方、血中側排泄輸送体のmultidrug resistance-associated protein 3(MRP3)の発現は8週間摂取以降から増加した。胆汁酸は上述のように、主として胆管に排泄されるが、迂回路として血中を介して腎臓から尿中排泄される経路がある。胆汁酸の多くは脂溶性(疎水性)で、通常タウリン抱合型またはグリシン抱合型胆汁酸として存在する。しかし、尿中に排泄されるためにはさらに水溶性を増す必要があり、その役割を担うのがグルクロン酸抱合や硫酸抱合である。

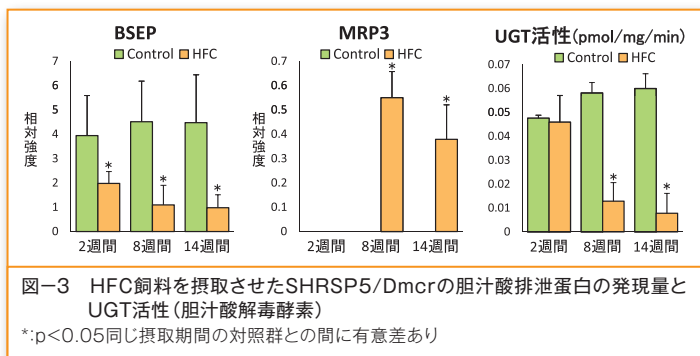


図-3 HFC飼料を摂取させたSHRSF5/Dmcrの胆汁酸排泄蛋白の発現量とUGT活性(胆汁酸解毒酵素)

\*:p<0.05同じ摂取期間の対照群との間に有意差あり

MRP3はグルクロン酸抱合された胆汁酸などを肝臓外へ排泄する輸送体である。しかし、UGT活性やこれらの抱合活性を制御する核内受容体の発現は、肝線維化が認められたHFC8週間摂取以降で低下していた<sup>5)</sup>。これらの状況から、MRP3の上昇にも関わらず、疎水性胆汁酸の肝臓からの細胞外排泄が遅延していると考えられた。胆汁酸は、タウリンやグリシン抱合を容易に受けるが、依然として疎水性は残り、特にグリシン抱合型はタウリン抱合型よりも細胞毒性が高く、濃度の増加により壊死を誘発するので<sup>8)</sup>、線維化進展につながる。

コレステロールから直接異化される1次胆汁酸として、コール酸(CA)とケノデオキシコール酸(CDCA)が上げられる。親水基を持つCAに比べ、CDCAは疎水性が強く、毒性が高い<sup>8)</sup>。CAがつくられるにはCYP7A1に引き続いてCYP8B1が必須である。CYP8B1の蛋白発現は、HFC2週間摂取からその発現が著明に低下していた(図-2)。一方、CDCAはCYP7A1からも産生されるが、CYP27A1は必須で、CYP7B1を経て産生される経路もある。CYP27A1は14週目では有意に低下しているが、CYP7B1は8週目以降著しく誘導されている。これらから、HFC早期にはCAは増えるが、病態の進展に従い生成は増えることなく、逆にCDCAは病態の進展に従い増えることが予想される。実際、コントロール群に比べ、CAは線維化が認められたHFC8週間摂取以降は低下していたのに対し、CDCAはすべての期間において増加しており(図-4)、線維化の認められた8週以降でCA/CDCA比が低下していた。また、HFC摂取により全期間でグリシン/タウリン抱合型胆汁酸比が著明に増加していた。

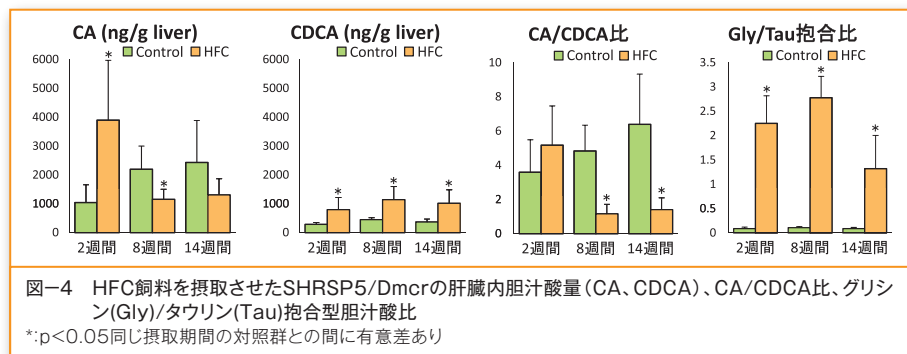


図-4 HFC飼料を摂取させたSHRSF5/Dmcrの肝臓内胆汁酸量(CA, CDCA)、CA/CDCA比、グリシン(Gly)/タウリン(Tau)抱合型胆汁酸比

\*:p<0.05同じ摂取期間の対照群との間に有意差あり

CA/CDCA比の低下は、肝線維化が著明な肝硬変患者の血

清データにおいても報告されており、HFC摂取によるSHRSF5/Dmcrの肝線維化進展の原因の一つとして、胆汁酸、特に毒性の高いCDCAの肝臓内蓄積が強く示唆された。しかし、上述の通り、NASHの合併症には脂質異常症だけでなく、肥満・糖尿病などのインスリン抵抗性増加による進展も報告されており、高糖質食摂取による病態進展の検討も必要と考えられる。

## 参考文献

- Schaffner F et.al. (1986) Prog Liver Dis 8:283-98
- Ludwig J et.al. (1980) Mayo Clin Proc 55(7):434-8
- Kitamori K et.al. (2012) Environ Health Prev Med 17(3):173-82
- Jia X et.al. (2014) Dig Dis Sci 59:in press  
DOI:10.1007/s10620-014-3028-3
- Jia X et.al. (2013) Dig Dis Sci 58(8):2212-22
- Lee CH et.al. (2007) Toxicology 238(2-3):147-56
- Suzuki Y et.al. (2013) Nagoya J Med Sci 75(1-2):57-71
- Woolbright BL et.al. (2012) World J Gastroenterol 18(36):4985-993