

閉経後女性のNASH発癌抑止を目指して

九州大学病院 肝臓膵臓胆道内科

助教 国府島 庸之

(共同研究者)

九州大学大学院 医学研究院 病態制御内科学 准教授 加藤 正樹

はじめに

内臓脂肪型肥満を背景とするメタボリックシンドロームは、糖脂質異常や血圧上昇が並行して生活習慣病を発症するという疾患概念であり、肝臓における表現型として非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) が注目されている。NAFLDのうち多くは壊死・炎症性変化や肝線維化に乏しい非アルコール性脂肪肝 (NAFL) に留まるが一部は肝細胞壊死・炎症所見から線維化を伴う非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に移行し、一部の症例で肝硬変や肝細胞癌を発症する。近年、食事を含めた生活習慣の変化のためNASH症例は増加し、肝細胞癌においてもウイルス性肝疾患に起因する肝細胞癌は減少傾向にある一方でNASH肝癌の罹患率の増加が認められる。

NAFLDの年齢別有病率は男女間で大きく異なっており、男性では30～50歳代がピークであるが、女性では50歳代から急速に増加するため、超高齢化社会を迎えるわが国では閉経後女性の肝細胞癌の増加が懸念されている。閉経の際には女性ホルモン、特にエストロゲンは大きく消退する。エストロゲン減衰による中枢性の肥満抑制作用や脂肪酸合成抑制作用の低下等の報告は散見されるが、肝脂肪化、肝線維化、肝発癌との関連については解明が進んでおらず、今後急速に増加すると考えられる閉経後の肝細胞癌発癌のメカニズム解明は重要と思われる。

閉経後NASH肝癌には発症機構に立脚した根本的な治療法がない現在、治療から予防へのパラダイムシフトが強く求められている。閉経後女性がNAFLからNASHを経て肝細胞癌を発症する一連の経時変化と分子機構を踏まえた予防戦略の開発と性差医療の推進は、急速に高齢化が進行するわが国において持続可能な社会の構築のために喫緊の課題である。

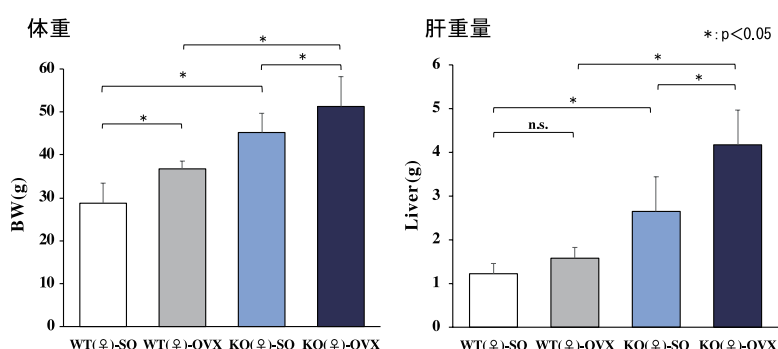
NAFLD病態解明のため、特殊な飼料や薬剤により誘導した肝線維化マウスモデルが多数報告されているが、これらの多くは代謝障害を伴わず、ヒトNASHの炎症所見や線維化の組織像とは大きく異なっているため、NASHの発症・進展機構の解明は多くの問題を抱えていた。メラノコルチン4型受容体 (MC4R) は視床下部弓状核に存在するproopiomelanocortin (POMC) ニューロンにおいて産生された α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH) の受容体であり、POMCニューロンの投射先である視床下部室傍核に発現 (その他脳幹部) している。MC4Rは摂食行動を抑制するPOMCニュー

ロンからの α -MSHにより興奮性に、摂食行動を促進するNPY/AgRP (Neuropeptide Y/Agouti-related peptide) ニューロンからのNPY, AgRP等により抑制的に制御を受け、食欲調節やエネルギー代謝調節に関与している。MC4R欠損マウス (MC4R-KO マウス) は中枢性摂食異常として過食を呈し、20週の高脂肪食負荷より肥満・インスリン抵抗性を背景として肝細胞の脂肪変性と顕著な肝線維化を来すNASHモデルマウスである。本研究では卵巣摘除後 (閉経後に相当) の雌性MC4R-KOマウスを用いて、NASH発症に対する閉経の影響について検討を行った。

結 果

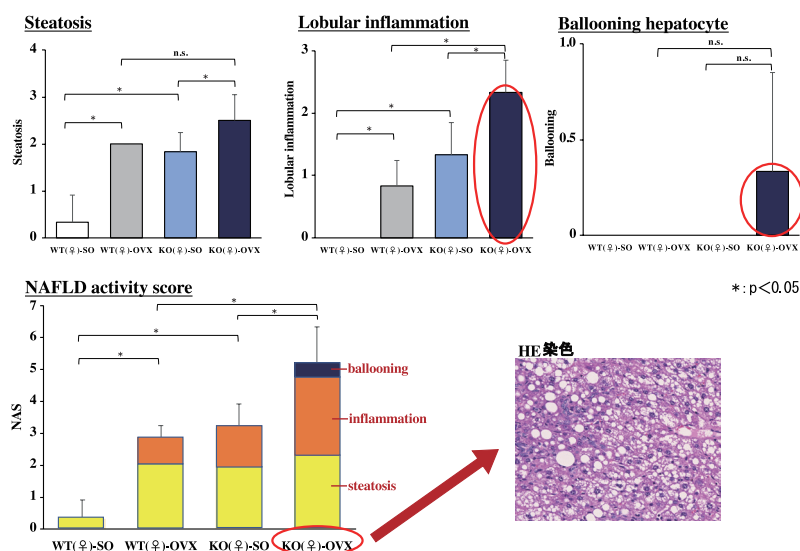
7週齢の雌性MC4R-KOマウスに対し卵巣摘除を行い、その後20週の高脂肪食負荷を行うことで、閉経後NASHモデルマウスを作成した。卵巣摘出後MC4R-KOマウス (KO-OVX) 群では、卵巣非摘出MC4R-KOマウス (KO-SO) 群と比し体重増加が有意に顕著で、高脂肪食20週負荷時の体重・肝重量は有意に高値であった (図1)。

図1. 体重、肝機能



KO-OVX群ではトランスアミナーゼ上昇が有意に顕著であり、組織学的にも肝脂肪化の程度 (steatosis)、炎症細胞浸潤の程度 (lobular inflammation) が有意に高度、風船様変化 (ballooning hepatocyte) も多い傾向にあり、その結果NAFLD activity scoreは有意に高値であった (図2) 組織学的な肝線維化進展は特に顕著であり、肝線維化進展の起

図2. NAFLD activity score



点となる hepatic crown-like structures (hCLS) も有意に多く認められた (図3)。肝組織を用いたマイクロアレイ解析において、卵巣摘出群ではサイトカイン・ケモカインシグナル・細胞外マトリックス産生に関わる遺伝子群の発現増加が認められた。中でも特に単球やマクロファージの遊走に関わる CCL8 の発現は KO-OVX 群において有意に高値であり、その発現変化は肝組織を用いた RT-PCR 法でも確認された (図4)。KO-OVX 群・KO-SO 群より非実質細胞を抽出し、NASH 病態進展に関わると考えられるマクロファージについて FACS 解析を行ったところ、KO-OVX 群では F4/80^{hi} CD11b^{int} の常在性マクロファージの割合が減少し、F4/80^{int} CD11b^{hi} の浸潤性マクロファージの割合が有意に増加していた (図5)。そ

図3. Fibrosis と hCLS

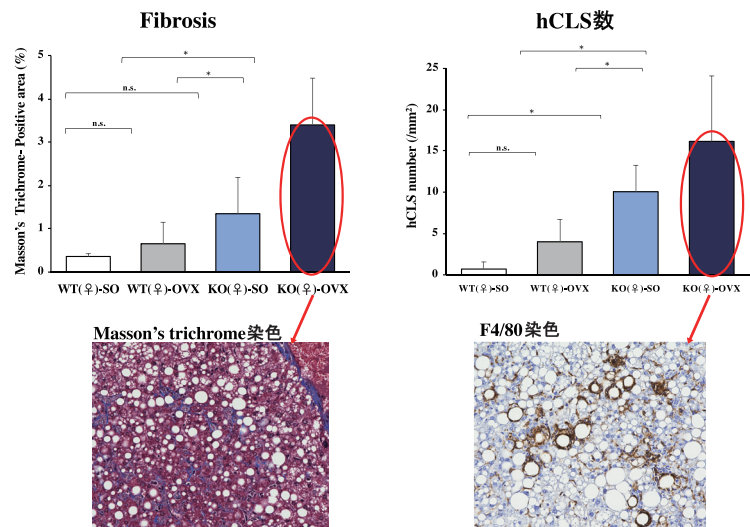


図4. マイクロアレイ解析

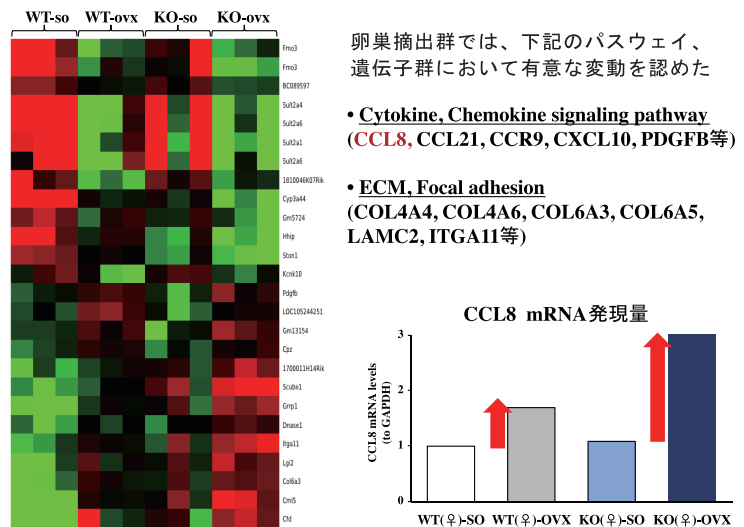
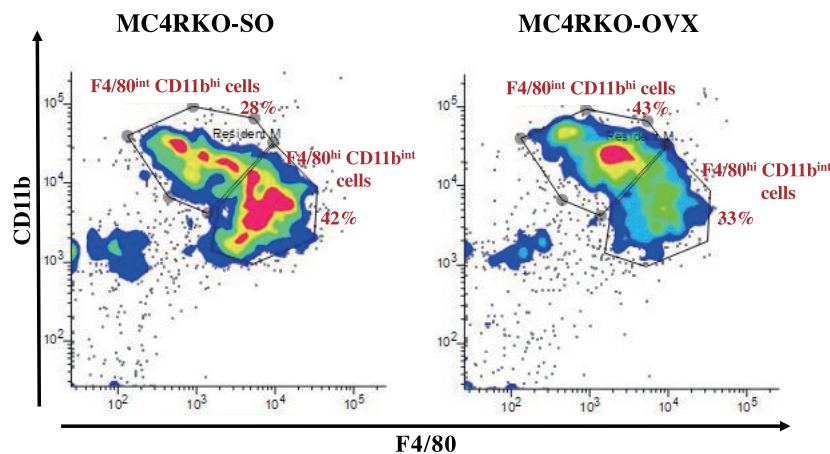
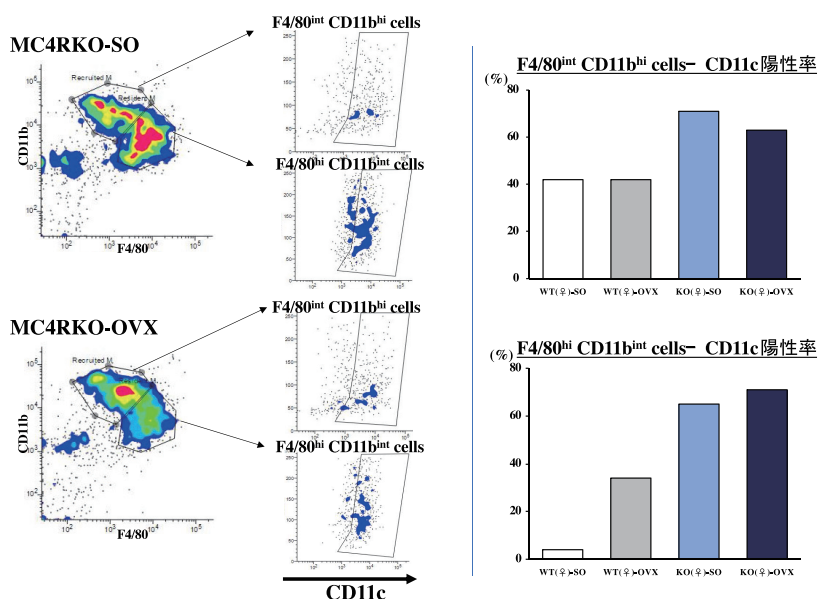


図5. FACS解析 マクロファージ分画



それぞれの分画において炎症促進性マクロファージのマーカであるCD11c陽性率について検討したところ、常在性マクロファージ・浸潤性マクロファージのいずれにおいても卵巣摘出に伴うCD11c陽性細胞数の割合に差を認めなかった。(図6)

図6. CD11c陽性 マクロファージ分画



考 察

MC4R-KOマウスを用いた検討にて、卵巣摘出はNASH病態進展を促進していた。マクロファージ画分の検討では卵巣摘出により浸潤性マクロファージの増加が確認され、CCL8を中心としたサイトカイン・ケモカインによる刺激によりマクロファージの浸潤が誘導され、肝線維化を含めた肝病態進展に関与している可能性が考えられた。現在これらのマウスより非実質細胞を抽出し、一細胞遺伝子発現解析を行うためのライブラリ作成に取り掛かっており、今後マクロファージを中心とした炎症細胞や伊東細胞などの質的・量的な変化と細胞間相互作用について検討する予定である。

要 約

閉経後NASHモデルマウスを作成した。閉経後NASHモデルマウスではマクロファージの変化によりNASH病態が進展していると考えられた。

文 献

国府島庸之、伊藤美智子、小川佳宏、NASH動物モデル、日本臨床、NAFLD/NASH -診断・治療の最新動向. 77 (5) : 799-805, 2019.