

Molecular pathology of fatty liver-associated metabolic syndrome

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9767

【総説】

脂肪肝から探る肥満症・2型糖尿病の病態 Molecular pathology of fatty liver-associated metabolic syndrome

金沢大学大学院医学系研究科恒常性制御学
(旧第一内科)

篁 俊 成

Key words fatty liver, nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, metabolic syndrome, gene expression

はじめに

医療は、臓器別診療体制を進めるなかで失ってきた全人的医療への回帰を目指して、再び連携を模索し始めた。医学も、臓器・細胞を超えて普遍的な生命現象が解き明かされるにつれ、ボーダーレス時代を迎え、生命の恒常性と破綻をもたらす臓器間ネットワークの解明が、21世紀医学の大きな命題となっている。もとより臓器間ネットワークを司るホルモンを扱ってきた内分泌学も新しい展開を迎え、ボーダーレス医学研究をリードしている。すなわち、古典的な内分泌臓器である視床下部-下垂体系、甲状腺、副甲状腺、副腎、性腺のみならず、いまや、心臓、血管、脂肪組織、肝臓をはじめとして、全身のあらゆる臓器が、ホルモンを産生・分泌し、遠隔臓器に作用して、種々の病態を形成することが明らかとなってきた。メタボリックシンドロームの病態に内臓脂肪蓄積の役割が注目されており、レプチンやアディポネクチンといった脂肪細胞由来因子が、全身の動脈硬化の進展に重要な役割を果たしているという研究は、動脈硬化の概念を大きく変え、新しい医学・医療を創出した。

いわゆる脂肪細胞は線維芽細胞内に脂肪滴が蓄積した状態である。したがって、細胞の起源を問わず、肝細胞や骨格筋に脂肪が蓄積しても、それらを脂肪細胞ととらえることが可能かもしれない(図1)。細胞の由来を問わず、細胞の脂肪化は多様な生理活性分子の発現・産生を正あるいは負に制御し、メタボリックシンドローム・糖尿病の病態を形成している可能性が考えられる(図1)。

とりわけ、肝臓は、糖・脂質代謝の司令塔であるのみならず、動脈硬化のリスクにつながる血管新生因子をはじめとする各種生理活性物質の生体内最大の産生臓器である。著者の教室では、肝臓・消化器、腎臓、循環器、そして内分泌代謝グループが連携し、肥満や糖尿病を背景に脂肪化した肝臓が動脈硬化につながる病態を形作る可能性を考え、検証に乗り出した。

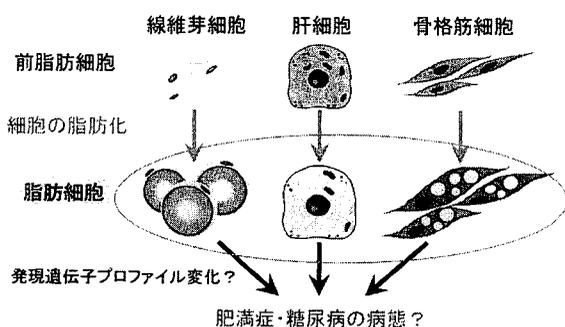


図1. 細胞の起源を問わず、細胞の脂肪化が病態を形成する可能性

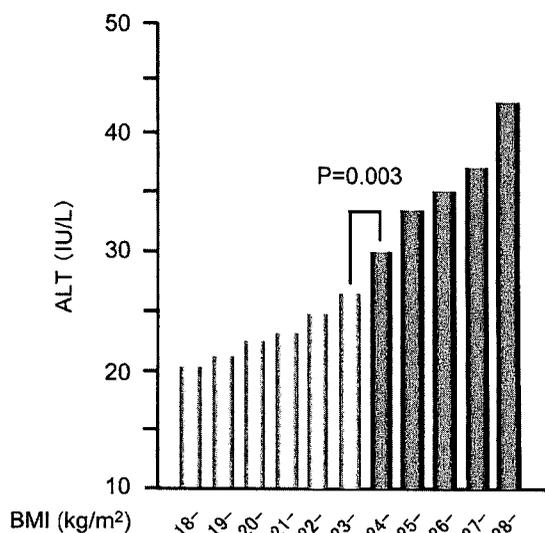


図2. BMI層別肝酵素値
日本人では、ALT値が有意に増大する最小のBMI値は24であり、軽度の肥満で脂肪肝が重症化する(文献7より改変)

2. 肝の脂肪化が慢性肝疾患に及ぼす影響

かつて非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) は代謝領域においては言うに及ばず、消化器領域においてさえ予後良好な良性疾患としてしか認識されていなかった。しかしながら現在、米国成人の25%が脂肪肝を有し、その20から30%は線維化の強い非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) に進展し、肝硬変・肝癌の発生源ともなりうるということが認識されてきた²⁾。すなわちNAFLDは肝疾患の中でもっとも頻度の多い疾患であり、NASHも慢性ウイルス性肝炎などの頻度を上回る。日本においても食生活の欧米化や肥満の増加にともない、脂肪肝の罹患率は増大してきた。また生体肝移植後に死亡したドナーの肝病理がNASHであった

ことが報告され、NASH肝は機能や再生能が低下していることがインパクトをもって認知された。輸血後C型肝炎の予後を追跡した著者らの成績でも、糖尿病および肥満は各々独立して、輸血後肝炎から肝硬変にいたる期間を短縮し、結果として肝癌発症、死亡までの期間をも短縮していた (Kita ら、投稿中)。米国同様、我が国においても近い将来、C型肝炎に代わりNASHが肝硬変・肝癌の最大の原因疾患となる可能性がある。

3. 非アルコール性脂肪肝の病理像が規定する病態

著者らが健診データをもとに代謝異常の各パラメーターをBMI層別に解析した結果、代謝異常が増大するBMI閾値は25にあり³⁾、欧米の肥満の基準である30を超えてもそれ以上有意に

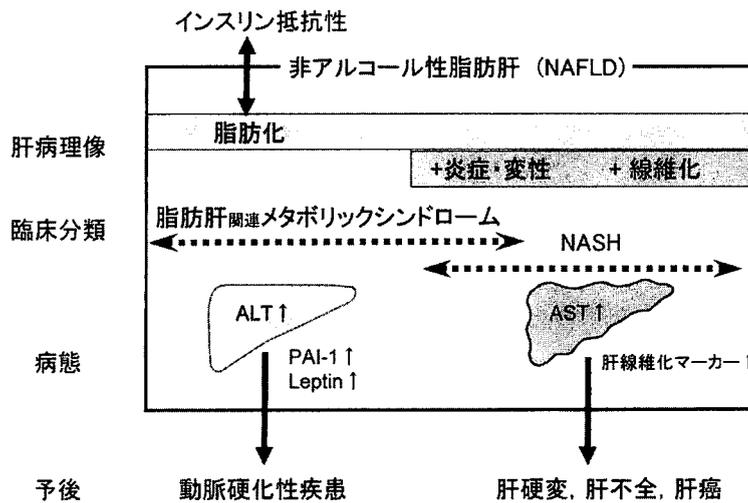


図3. 脂肪肝関連メタボリックシンドロームとNASHの病理・病態・予後 (文献7より改変)

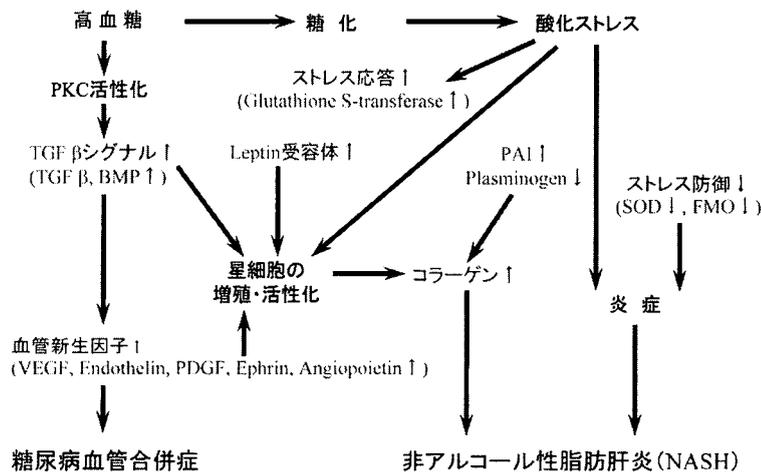


図4. 2型糖尿病患者の肝臓で発現増強あるいは減弱する遺伝子からみた糖尿病の病態 (文献9より) 包括的発現遺伝子解析により、2型糖尿病患者の肝で発現が増強あるいは減弱することを確認した遺伝子を示す。糖尿病患者の肝臓では高血糖状態によりジアシルグリセロール由来のプロテインキナーゼCが活性化し、TGF-βが活性化し、血管新生因子の発現が誘導され、全身の血管合併症に関与している可能性がある。一方、糖化による酸化ストレスは肝に炎症を及ぼし、TGF-β活性化、およびレプチン受容体の発現増強とあいまって星細胞の活性化を招き、線維化が招来され、NASHの病理像を形成する可能性がある。

増大しなかった⁹⁾。さらにBMI層別肝酵素値を検討したところ、ALT値が有意に増大する最小のBMI値は24であった(図2)。

したがって日本人は肥満の程度は軽度であるが、比較的軽度の体重増加でも代謝異常や肝機能異常が増大する可能性がある。NAFLD患者の肝病理像と臨床像を検討した欧米における研究⁹⁾では、単純性脂肪肝患者よりNASH患者の方が肥満の程度が強く、インスリン抵抗性や代謝異常の増大には肝臓の病理よりむしろ肥満が寄与している可能性がある。日本人は肥満の程度は軽度でも、肝病理が規定する病態は、肥満やインスリン抵抗性の程度が軽度なわが国においてこそ解析されるべきと考える。そこで、肝の組織像と臨床像の関連を解析

し、肝の脂肪化がメタボリックシンドロームを形成する可能性を検証した(Sakuraiら、投稿中)。

肝障害または糖尿病で入院し、肝生検を施行した患者を対象とした。BMI ≥ 25 kg/m²、中性脂肪 ≥ 150 mg/dlまたはHDL-C < 40 mg/dl、血圧 $\geq 130/85$ mmHg、空腹時血糖 ≥ 110 mg/dlのうち3項目以上該当する場合と定義したメタボリックシンドローム症例は23%であった。生検肝組織標本から脂肪化(steatosis)、線維化(stage)、肝細胞変性(ballooning)の程度をBruntの分類¹⁰⁾に基づきスコア化した。

肝脂肪化と肝細胞変性を有する症例をNASHとすると、27%がNASHであった。組織学的に、炎症と線維化との間には有意

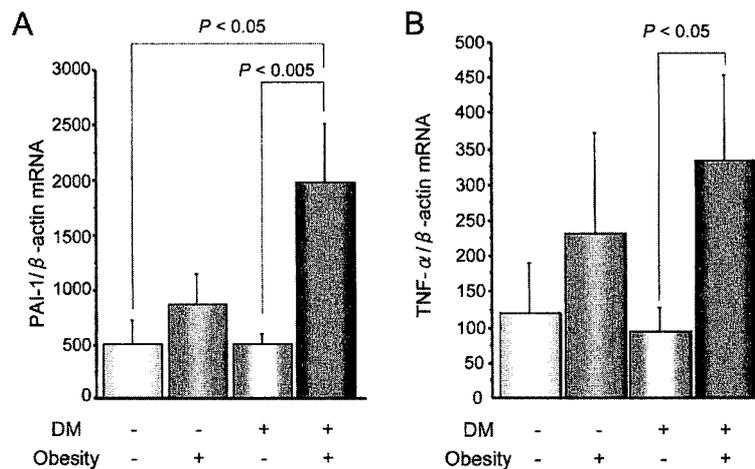


図5. 2型糖尿病および肥満が肝臓におけるPAI-1 (A), TNF- α (B) 各遺伝子発現に及ぼす効果

遺伝子発現量はReal-time PCR法を用いて定量し、 β -actin mRNA量を内在性コントロールとして用いて補正した。DM, 2型糖尿病; Obesity, 肥満。Bar, mean \pm SD. (文献10より転載)。

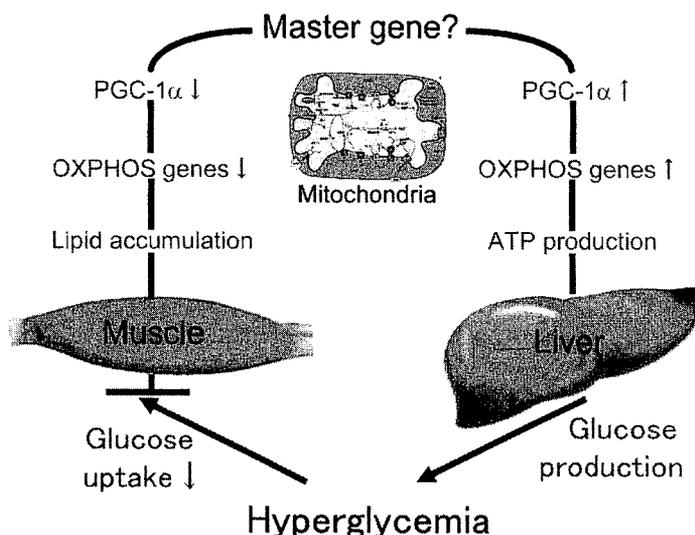


図6. 2型糖尿病患者の骨格筋および肝臓におけるOXPHOS遺伝子群の発現制御モデル

著者らが2型糖尿病患者の肝臓で同定したOXPHOS遺伝子群の協調的発現亢進は、骨格筋におけるそれらの協調的発現低下と鏡像関係にある。この違いにより、骨格筋では糖取り込みの低下が、肝臓では糖放出の亢進が起こり、高血糖がもたらされる可能性がある(12)。

な相関関係を認める一方、脂肪化の程度は炎症および線維化のいずれとも相関しなかった⁹⁾。

年齢・性・BMIで補正しても、脂肪化、線維化、肝細胞変性、すべての肝病理像はインスリン抵抗性と有意に関連したが、重回帰分析により、他の病理像で補正すると、肝脂肪化のみが、インスリン抵抗性と関連した。したがって、肝脂肪化はBMIや他の肝組織学的変化と独立して、インスリン抵抗性を予知することがわかった (Sakuraiら、投稿中)。

さらに、肝脂肪化は、BMIやインスリン抵抗性とは独立して、肥満やインスリン抵抗性、最近では肝線維化との関連が注目されているレプチン、また線溶系を阻害し線維化を促進させ、動脈硬化にも関与すると考えられるPAI-1、各々の血中レベルを予知していた (Sakuraiら、投稿中)。メタボリックシンドロームの頻度は肝脂肪化と関連して上昇したが⁸⁾、肝線維化とは関連しなかった⁹⁾。

以上の結果より、脂肪肝が強くむしろ線維化の軽度な一群は、高度線維化NASH患者に増して、インスリン抵抗性を背景に有し、脂質代謝異常が強く、メタボリックシンドロームの特徴を強く備えていた (図3)。この一群を脂肪肝関連メタボリックシンドロームとして認識し、動脈硬化症のリスク管理に留意するべきと考える⁸⁾。

4. 肝臓の包括的発現遺伝子解析からみた糖尿病の病態

著者らは先に、遺伝子発現プロファイルの観点から、NAFLDの各病理像相互の関連性の強さを解析した結果、肝の炎症・線維化にもまして、脂肪化こそが発現遺伝子プロファイルを基にしたクラスター分類の主因子である知見を得た⁸⁾。包括的発現遺伝子解析において、個々の遺伝子に着目すると、軽度の脂肪肝を有する2型糖尿病患者の肝臓では、糖代謝に直接に関連する遺伝子だけでなく、血管新生因子など多彩な遺伝子が発現変動していた⁹⁾ (図4)。

さらに、2型糖尿病患者では肥満が加わると、血栓形成性・線維化促進性に働くPAI-1の血漿レベルが高まっており、そのような患者の脂肪化した肝では、PAI-1遺伝子発現が協調的に亢進していた (図5A)¹⁰⁾。肥満によるインスリン抵抗性を介在する候補であるTNF- α 遺伝子発現は肥満2型糖尿病患者で亢進しており (図5B)、培養肝細胞を用いて検討すると、TNF- α は、タンパクチロシンキナーゼ、MAPキナーゼ経路を介して、PAI-1産生を促進することがわかった¹⁰⁾。

これらの結果は、肝臓が糖および脂質代謝の主要臓器として糖尿病に直接に関与するだけでなく、動脈硬化等の血管病変の進展に重要な役割を果たしていることを示唆する。このような観点から、肥満、血糖コントロール、あるいはインスリン抵抗性と関連して、肝臓で発現変動する未知分泌タンパク候補遺伝子を絞り込み¹¹⁾、現在、それらの遺伝子の機能解析を進めている。

一方、2型糖尿病は多因子が複雑に関与した疾患であり、また重要な遺伝子の発現が大きく変動するとは限らない。このため、個々の遺伝子を独立して追っていく従来の発現遺伝子解析のアプローチでは、病態を作る上流の異常、あるいは多数の遺伝子を制御するマスター遺伝子を同定することが困難と思われる。そこで、個々の遺伝子の発現変動は軽微でも、グループとして発現が協調的に亢進あるいは減弱している代謝パスウェイを同定するアプローチが有用となる。

この目的のため、2型糖尿病患者および正常肝患者のserial

analysis of gene expression (SAGE) 解析により、糖尿病肝44280遺伝子tag、正常肝100621遺伝子tagを同定し、教室で蓄積した肝発現遺伝子データベース、BLASTデータベースおよび米国Celera社の提供するゲノム情報のホモロジー検索によりtagがコードする遺伝子とontologyを同定し、出現頻度順にランク付けした¹²⁾。教室ですでに解析済みの正常肝SAGEライブラリー¹³⁾における発現プロファイルと比較することにより、2型糖尿病で発現が亢進または減弱している遺伝子群を同定した。2型糖尿病の肝臓では16S & 12SリボソームRNAなどのミトコンドリア遺伝子群、および核由来のミトコンドリア関連遺伝子群の発現が亢進していた。さらに詳細に検討したところ、糖尿病の肝ではATP5B, NDUFA6, SDHC等のミトコンドリア呼吸鎖を形成する酸化的リン酸化 (OXPHOS) に関与する遺伝子が正常肝での1.7倍に発現亢進していた。症例を増やしてDNAチップで解析したところ、OXPHOS関連114遺伝子の発現シグナルを標準化して求めたOXPHOS平均値は、各症例のFPGと有意に関連し、さらに末梢でのインスリン抵抗性指標であるグルコースクランプ法にて算出したMetabolic Clearance Rateと負の相関を示す傾向にあった (Misuraら、投稿中)。

ごく最近、2型糖尿病患者の骨格筋では転写補助因子PGC-1 α によって制御されるミトコンドリア酸化的リン酸化に関与する遺伝子群の発現が低下していることが見いだされた¹⁴⁾。2型糖尿病患者の肝では、骨格筋のインスリン抵抗性を代償すべくOXPHOS遺伝子発現が亢進し、その結果産生されたATPが糖新生酵素に供給され肝からの糖放出が促進する可能性を考える (図7)。OXPHOS遺伝子群の肝臓および骨格筋における組織特異的発現を制御するマスター因子あるいは遺伝子を同定することが、2型糖尿病の病態を解明する鍵となるかもしれない。

おわりに

本稿では、肝臓の脂肪化がもたらす肝臓自体の病気、あるいはメタボリックシンドロームや糖尿病といった全身の病態について、著者の教室で得た知見を紹介した。過剰なエネルギー摂取に対する代償として生じる肝臓への脂肪蓄積は、ヒトにおいても遺伝子発現にダイナミックな変化をもたらしている。そのような過栄養への適応が、代謝異常に促進的、保護的、いずれに働くのかを理解すること、そして、肝臓-脂肪組織-骨格筋間の臓器間ネットワークを制御する上流分子を同定することが、動脈硬化につながる代謝疾患の根源的な制御に向けた突破口となろう。未だ道遠しであるこのプロジェクトに、領域を超えて多くの研究者が参入してくださることを願って、稿を終える。

謝 辞

本研究は、金子周一教授の指導のもと、旧内科学第一教室の糖尿病・内分泌グループと肝・消化器グループが共同で遂行しているものである。一部の肝サンプルは、患者さんの同意のもと、西村元一先生、藤村 隆先生、萱原正都先生、太田 哲生先生をはじめとする消化器外科学教室の先生方に生検いただいた。肝臓の病理学的評価は、統一した基準のもと、附属病院病理部の全 陽先生、湊 宏先生、大学院医学系研究科がん細胞学の佐々木素子先生、中沼安二先生によりなされた。

文 献

- 1) Green RM: NASH-hepatic metabolism and not simply the metabolic syndrome. *Hepatology* 38: 14-17, 2003
- 2) Sakurai M, Miura K, Takamura T, Ota T, Ishizaki M, Morikawa Y, Kido T, Naruse Y, Nakagawa H: Gender differences in the association between anthropometric indices of obesity and blood pressure in Japanese. *Hypertens Res* 29: 75-80, 2006
- 3) Ota T, Takamura T, Hirai N, Kobayashi K: Preobesity in world health organization classification involves the metabolic syndrome in Japanese. *Diabetes Care* 25: 1252-1253, 2002
- 4) 太田嗣人, 山上孝司, 櫻井 勝, 篁 俊成: 日本人で代謝異常が増大するBMI閾値. *肥満研究* 11: 317-322, 2004
- 5) Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M: Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 37: 917-923, 2003
- 6) Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR: Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 94: 2467-2474., 1999
- 7) 篁 俊成, 櫻井 勝, 太田嗣人, 金子周一: 非アルコール性脂肪肝. In *分子糖尿病の進歩2005-基礎から臨床まで*. 矢崎義雄, 渥美義人, 門脇 孝, 春日雅人, 清野 進, Eds. 東京, 金原出版, 2005, p. 153-161
- 8) 篁 俊成, 櫻井 勝, 金子周一: 肝細胞の脂肪化が形成するメタボリックシンドロームの病態と分子病理. *内分泌・糖尿病科* 21: 155-160, 2005
- 9) Takamura T, Sakurai M, Ota T, Ando H, Honda M, Kaneko S: Genes for systemic vascular complications are differentially expressed in the livers of type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 47: 638-647, 2004
- 10) Takeshita Y, Takamura T, Hamaguchi E, Shimizu A, Ota T, Sakurai M, Kaneko S: Tumor necrosis factor- α -induced production of plasminogen activator inhibitor-1 and its regulation by pioglitazone and cerivastatin in a non-malignant human hepatocyte cell line. *Metabolism*, 2006, in press
- 11) 篁 俊成, 御簾博文, 山下太郎, 金子周一: 糖尿病の病態と関連して発現変動する遺伝子群. 特許申請中
- 12) Misu H, Takamura T, Matsuzawa N, Kaneko S: PGC-1 α -responsive-genes for mitochondrial oxidative phosphorylation are up-regulated in liver of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 48 (Suppl. 1): A24, 2005
- 13) Yamashita T, Hashimoto S, Kaneko S, Nagai S, Toyoda N, Suzuki T, Kobayashi K, Matsushima K: Comprehensive gene expression profile of a normal human liver. *Biochem Biophys Res Commun* 269: 110-116., 2000
- 14) Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, Puigserver P, Carlsson E, Ridderstrale M, Laurila E, Houstis N, Daly MJ, Patterson N, Mesirov JP, Golub TR, Tamayo P, Spiegelman B, Lander ES, Hirschhorn JN, Altshuler D, Groop LC: PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet* 34: 267-273, 2003