

# 木科学 学位論文審査要旨

主 査 長谷川 純 一

副主査 松 浦 達 也

同 村 脇 義 和

## 主論文

Therapeutic effects of the direct renin inhibitor, aliskiren, on non-alcoholic steatohepatitis in fatty liver Shionogi *ob/ob* male mice

(FLS-*ob/ob*雄性マウスでのレニン直接阻害薬aliskirenによる非アルコール性脂肪肝炎への治療効果)

(著者：木科学、孝田雅彦、加藤順、徳永志保、的野智光、杉原誉明、植木賢、村脇義和)

平成25年 Hepatology Research 掲載予定

## 参考論文

1. Assessment of ablative margin by unenhanced magnetic resonance imaging after radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma

(肝細胞癌に対するラジオ波焼灼術後の単純MRIによる焼灼帯の評価)

(著者：孝田雅彦、徳永志保、三好謙一、木科学、藤瀬幸、加藤順、的野智光、岡本欣也、村脇義和、柿手卓)

平成24年 European Journal of Radiology 81巻 2730頁～2736頁

# 学 位 論 文 要 旨

Therapeutic effects of the direct renin inhibitor, aliskiren, on non-alcoholic steatohepatitis in fatty liver Shionogi *ob/ob* male mice

(FLS-*ob/ob*雄性マウスでのレニン直接阻害薬aliskirenによる非アルコール性脂肪肝炎への治療効果)

近年、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の病態進展にレニン-アンジオテンシン系の関与が報告されており、これまでの研究でアンジオテンシン II 受容体拮抗薬が肝脂肪化、線維化、および炎症を改善することを報告した。最近、降圧剤としてレニン直接阻害薬が開発され、臨床応用されている。本研究では、ヒトでのNASHに類似したFLS-*ob/ob*マウスにレニン直接阻害薬であるaliskirenを投与し、肝線維化およびNASH自体に対する治療効果を検討した。

## 方 法

生後8週雄性のFLS-*ob/ob*マウス16匹をコントロール群 (Con群)、aliskiren投与群 (Ali群) に分けた。Ali群は胃ゾンデを用いて経口的にaliskiren 100 mg/kg/dayを16週間投与し、と殺した。レニンはL字型蛋白が左右対称に向かい合い、その間に長く深い溝 (cleft) を有し、cleftの底部に2つのアスパラギン酸残基が存在し、それがタンパク質分解酵素活性中心として働いているが、aliskirenはcleftに入ることによって、アンジオテンシノーゲンの酵素活性中心への到達を妨げ、レニン活性を阻害する。aliskirenの投与量は、マウスでのaliskirenのcleftに対する親和性から、ヒトでの常用量の40倍に設定した。肝線維化の程度はSirius red染色、ヒドロキシプロリン (Hyp) 量にて評価した。肝におけるMCP-1、CTGF、Procollagen I、TGF- $\beta$ 1、TNF- $\alpha$ 、PPAR- $\alpha$ 、TIMP-1、SREBP1c、FAS、MTPのmRNA発現はreal-time PCRにて測定した。肝星細胞の活性化は $\alpha$ -SMA染色で評価した。肝における脂肪化の程度はoil red染色で評価した。肝における炎症の程度は活性化クッパー細胞を反映するF4/80染色陽性細胞数で評価した。酸化ストレスの評価は8-OHdG免疫染色、4-HNE免疫染色にて行った。肝組織のアポトーシスはTUNEL染色で評価した。

## 結 果

Con群、Ali群において体重、肝重量に有意な差は認めなかった。肝コレステロール量はCon群と比べAli群で有意に減少し、oil red染色による脂肪化面積はAli群で有意に減少し

た。Sirius red染色による線維化面積はCon群と比べAli群で有意に減少し、肝Hyp量も減少傾向を認めた。肝におけるmRNA発現では、Con群と比べAli群でTGF- $\beta$ 1、CTGFにおいて有意に減少し、Procollagen Iも減少傾向であった。 $\alpha$ -SMA染色での活性化星細胞数はCon群と比べAli群で有意に減少した。次に、炎症の指標としてF4/80染色によるクッパー細胞数はCon群と比べAli群で有意に減少した。炎症性サイトカインであるMCP-1のmRNA発現もAli群で有意に減少し、TNF- $\alpha$ のmRNA発現は減少傾向を認めた。8-OHdG免疫染色、4-HNE免疫染色による酸化ストレスはCon群と比べAli群で有意に減少した。TUNEL染色ではCon群と比べAli群で減少した。

## 考 察

今回の研究においてaliskirenは非アルコール性脂肪肝炎での肝線維化を抑制した。過去の報告でもコリン欠乏食NASHモデルのラットや四塩化炭素肝障害マウスに対し、aliskirenが肝線維化の進展を抑制することが示されている。この理由としては、肝星細胞の活性化の抑制、炎症性サイトカイン、酸化ストレスの遺伝子レベルでの抑制が考えられる。

肝コレステロール量はAli群で有意に減少した。肝におけるコレステロールの蓄積はアポトーシスの制御、マクロファージの動員、肝線維化を進展させ、NASHの一因になっているという報告がされている。従ってaliskiren投与による肝コレステロールの減少は肝における炎症や線維化の抑制に寄与している可能性がある。ただ、aliskirenによる肝コレステロール減少のメカニズムに関しては、脂質代謝関連遺伝子の明らかな変動を認めず、不明のままである。

## 結 論

レニン直接阻害薬であるaliskirenは肝星細胞の活性化を抑制し、酸化ストレスや炎症性サイトカインを減少させ、肝線維化を改善することが示唆された。

## 審査結果の要旨

近年レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系と肝線維化との関連が注目されているが、本研究は非アルコール性脂肪肝炎のモデルであるFLS-ob/obマウスに、レニン直接阻害薬であるaliskirenを投与し、肝線維化および脂肪肝炎に対する治療効果を検討したものである。その結果、経口的にaliskiren 100 mg/kg/dayを16週間投与すると、形態学的・生化学的に肝線維化および脂肪肝炎が抑制された。この機序として、肝星細胞の活性化の抑制、炎症性サイトカインや酸化ストレスの抑制が挙げられた。本研究は、レニン直接阻害薬が肝線維化を含めた脂肪肝炎自体の治療に有用であることを示したものであり、明らかに学術水準を高めたものと認める。

## 最終試験の結果の要旨

主査と副主査の3名が一室に会し、公開の状態で口頭試問により最終試験を行った。主論文ならびに参考論文に関する詳細な質問のほか、主査は降圧薬の種類とその特徴について、副主査の一人はメタボリックシンドロームの発症メカニズムについて、他の副主査は肝細胞癌に対する分子標的薬の現状について質問したが、おおむね正確にして満足すべき回答を得、独立して研究するに十分な能力と学識を持つことを確認した。