

平成22年9月

的野智光 学位論文審査要旨

主査 松浦達也
副主査 長谷川純一
同 村脇義和

主論文

The effects of the selective mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rat

(胆管結紮ラット線維肝に対する選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬エプレレノンの効果)

(著者：的野智光、孝田雅彦、徳永志保、杉原誉明、植木賢、村脇義和)

平成22年 International Journal of Molecular Medicine 25巻 875頁～882頁

学 位 論 文 要 旨

The effects of the selective mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rat

(胆管結紮ラット線維肝に対する選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬エプレレノンの効果)

近年レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系が、肝線維化および門脈圧亢進に強く関与していることが明らかにされている。著者らは先にアンジオテンシンⅡ(AT-Ⅱ)を抑制するAT-Ⅱ受容体拮抗薬が実験動物モデルおよび臨床試験で肝線維化を抑制することを報告している。最近、アルドステロン作用を選択的に抑制するミネラルコルチコイド受容体拮抗薬であるエプレレノンが、降圧薬として開発され、心筋や腎における線維化を抑制することが報告されている。本研究では、胆管結紮ラットを用いてエプレレノンの肝線維化抑制効果を検討した。

方 法

雄性Wistarラットをネンブタール麻酔下に開腹し、総胆管を二重結紮後切断し、対照群、エプレレノン低用量群(1 mg/kg体重)、高用量群(4 mg/kg体重)に分けた。結紮翌日より21日間エプレレノンを胃ゾンデにより経口投与し、その後に屠殺し、採血および肝組織を採取した。肝線維化指標として、肝ヒドロキシプロリン(Hyp)量および肝線維化面積を測定した。細胞外マトリックス代謝関連の遺伝子、procollagen I、transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)、connective tissue growth factor (CTGF)、matrix metalloprotease-13 (MMP-13)、tissue inhibitor of metalloprotease-1 (TIMP-1)をreal-time PCR法にて定量した。活性型肝星細胞数を α -smooth muscle actin (SMA)免疫染色で検討した。また、酸化ストレスマーカーとして肝組織中の8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG)を、脂質過酸化マーカーとして4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE)を免疫染色で検討するとともに、8-OHdGについてはELISA法でも測定した。血漿AT-Ⅱ濃度をRIA法で測定した。

結 果

肝組織中のHyp量は、対照群で $602 \pm 152 \mu\text{g/g}$ 肝に対して、高用量群で 446 ± 169 と低下する傾向にあった。また肝組織中の線維化面積は、対照群で $9.8 \pm 3.6\%$ に対して、高用量群では 4.8 ± 2.5 と有意に減少した ($p=0.0052$)。肝組織中の α -SMA陽性率も対照群で 4.9 ± 2.0

に対して、高用量群で 2.6 ± 2.0 と有意に減少した ($p=0.032$)。遺伝子レベルでの検討では、procollagen I mRNA発現がエプレレノン投与によりやや減少する傾向を認めた。一方、線維化促進性サイトカイン、TGF- β 、CTGFおよびMMP-13のmRNAは変わらなかったが、TIMP-1 mRNA発現は、低用量群および高用量群で減少した。肝での8-OHdG陽性細胞率は、対照群で $68.7 \pm 8.7\%$ に対して、低用量群で 51.6 ± 7.9 ($p=0.0005$)、高用量群で 53.4 ± 7.3 ($p=0.0007$)と有意に減少した。さらに4-HNE染色強度は、対照群で 2.9 ± 0.87 に対して、高用量群で 2.1 ± 0.69 と有意に低下した ($p=0.046$)。血中AT-II濃度は対照群で 237 ± 145 pg/mlに対して高用量群で 120 ± 45 と有意に減少した ($p < 0.05$)。

考 察

今回選択的アルドステロン受容体拮抗薬であるエプレレノンの高用量投与により胆管結紮ラットでの肝線維化進展が抑制されることが示された。この機序として肝星細胞活性化の抑制、酸化ストレスおよび脂質過酸化の抑制が示唆された。遺伝子レベルでは procollagen-I 遺伝子発現が抑制され、コラーゲン分解酵素の生物学的活性を制御しているTIMP-1 遺伝子発現が抑制されていた。従って、エプレレノンはコラーゲン合成を抑制するとともに、TIMP-1遺伝子の抑制を介してコラーゲンの分解を促進していることが示唆された。最近ではアルドステロン自体がラット肝星細胞においてI型コラーゲンの合成を促進する事が報告されており、エプレレノンの抗線維化作用としては、酸化ストレスおよび脂質過酸化の抑制による肝星細胞の活性化抑制とともに、アルドステロン自体による線維化促進作用を直接抑制している可能性も挙げられる。一方エプレレノンは血漿AT-II濃度を減少させたので、AT-II抑制を介する作用機序も考えられる。エプレレノンによるAT-II減少機序としては、エプレレノンがアンジオテンシン変換酵素2遺伝子を誘導し、AT-IIをAT-(1-7)に変換するためと推測される。

結 論

エプレレノンが胆管結紮ラットにおける肝星細胞活性化の抑制、酸化ストレスの減少、AT-IIの減少を介して肝線維化進行を抑制することが示された。