

2021年03月23日

報道機関 各位

東北大学大学院医学系研究科
東北大学病院

アミノ酸バランスの乱れた食事が脂肪肝を悪化させる - 脂肪肝に關与する遊離アミノ酸不均衡と酸化ストレス応答の關係を解明 -

【研究のポイント】

- 脂肪肝モデルマウスでは、門脈^{注1}血中の遊離アミノ酸^{注2}のバランスが崩れ、このうちメチオニンおよびチロシンの低下がフマル酸代謝・酸化ストレス応答^{注3}抑制を介して肝臓での脂質の蓄積を誘導していることを発見した。
- 一部の脂肪肝は肝硬変・肝癌の原因となるがその病態メカニズムは不明であり、今回の発見により遊離アミノ酸・フマル酸代謝、酸化ストレス応答機構が新規治療ターゲットとなることが期待される。

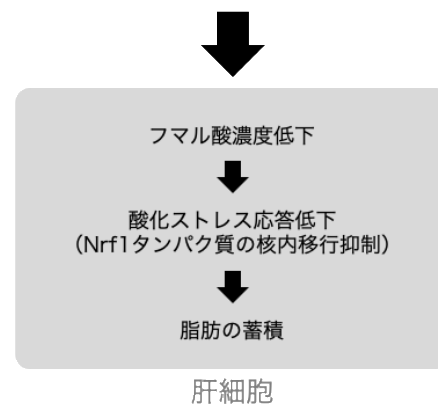
【研究概要】

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は、アルコールを多量に摂取しないにも関わらず脂肪肝を生じる慢性肝疾患です。肥満人口の増加に伴い全世界的に急増しており、日本の成人の有病率も約 30%程度とされています。NAFLD の一部は肝硬変・肝癌発症の原因となるため、病態の解明と治療薬の開発が急務となっています。

東北大学大学院医学系研究科消化器病態学分野の佐野晃俊大学院生、嘉数英二助教、正宗淳教授らの研究グループは、腸から肝臓に流入する門脈血内の遊離アミノ酸と脂肪肝の關係を解析し、脂肪肝モデルマウスでは空腹時門脈血中の遊離アミノ酸のバランスが乱れており、2 つのアミノ酸(メチオニンおよびチロシン)の低下が肝細胞の脂肪毒性に対する酸化ストレス応答を妨げ、脂質放出を抑制することを明らかにしました。本研究の結果から、遊離アミノ酸代謝や酸化ストレス応答機構が非アルコール性脂肪性肝疾患の新たな治療ターゲットとなることが期待されます。

本研究成果は、2021年3月16日 HEPATOLOGY 誌に掲載されました。

門脈血におけるアミノ酸(メチオニン・チロシン)濃度低下



【研究内容】

非アルコール性脂肪性肝疾患 (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) は、過栄養のために肝細胞に過剰な脂質が貯まる慢性肝疾患です。肥満人口の増加とともに世界的に急増していますが、現時点で有効な治療方法は食事・運動療法による減量や一部の糖尿病薬の副次効果に限られており、有効な治療薬は未だありません。非アルコール性脂肪性肝疾患の一部は非アルコール性脂肪性肝炎として肝硬変・肝癌の原因となりうるため、病態解明と治療法の開発が急務です。

近年、腸内細菌叢の研究の進歩とともに、非アルコール性脂肪性肝疾患患者では腸内細菌叢の構成が異なっており、腸内細菌の代謝産物などによる代謝調節機構が肥満関連の様々な病態に関与していることが報告されています。腸内細菌によって産生された代謝産物は門脈を經由し肝臓に流入することから、門脈血中の代謝産物の解析は非アルコール性脂肪性肝疾患の病態解明に重要であると考えました。今回、東北大学大学院医学系研究科消化器病態学分野の佐野晃俊 (さの あきとし) 大学院生・嘉数英二 (かかず えいじ) 助教・正宗淳 (まさむね あつし) 教授らの研究グループは、腸から肝臓に流入する門脈血内の遊離アミノ酸と脂肪肝の関係について解析し、脂肪肝モデルマウスでは空腹時門脈血中の遊離アミノ酸のバランスが乱れており、2つのアミノ酸 (メチオニンおよびチロシン) の低下が脂肪毒性に対する酸化ストレス応答を妨げ肝細胞からの脂質放出を抑制することを明らかにしました。

本研究において、脂肪肝の動物モデル (ob/ob マウス) の門脈血中のアミノ酸濃度を測定し、過栄養状態にも関わらず7種類の遊離アミノ酸が低下していることを発見しました (図 1)。アミノ酸低下の影響を培養した肝細胞を使用した実験で確認した結果、7種類の遊離アミノ酸のうちメチオニンおよびチロシンレベルの低下によって、肝細胞からの脂質の放出が抑制されていることが分かりました。また、健全な野生型のマウスにメチオニンおよびチロシンを制限した高脂肪食を与えることによって、非アルコール性脂肪性肝疾患の病態を再現することができました (図 2)。

細胞内でメチオニンおよびチロシンが代謝されると、フマル酸が産生されます。フマル酸は酸化ストレス応答タンパク質である Nrf2^{注4} の核内移行を促進することが知られています。高脂肪の食事では、脂肪酸によって肝細胞内のフマル酸濃度が上昇し、Nrf2 の核移行が促進しますが、高脂肪かつ低メチオニン・チロシンの食事では肝細胞のフマル酸濃度の上昇が起きませんでした。また細胞実験において、フマル酸の前駆体を添加することで肝細胞内の脂質の貯留が改善されることを確認しました。

つぎに、Nrf2 の働きが肝臓で活性化されている遺伝子改変マウス (Nrf2 を抑制する働きを持つ *Keap1* 遺伝子を肝臓特異的に抑制したマウス: 以下、*Keap1* 変異マウス) を用い検討しました。通常マウスでは高脂肪かつメチオニン・チロシン制限食により非アルコール性脂肪性肝疾患の病態が再現されますが、この *Keap1* 変異マウスでは脂肪肝の変化が軽減されていました。また *Keap1* 変異マウスの肝臓からオルガノイド^{注5} を作成し、脂肪の蓄積を解析したところ、メチオニン・チロシン制限環境下での脂質の蓄積が抑制されました (図 3)。さらに、非アルコール性脂肪性肝疾患患者において、

末梢血中遊離脂肪酸とメチオニン・チロシンの割合が肝脂肪化レベルに相関関係があることを見出しました。

結論: 本研究結果から、脂肪肝モデルマウスでは門脈血中の遊離アミノ酸のバランスが崩れており、このうちメチオニン・チロシンの低下はフマル酸代謝・酸化ストレス応答を経て肝細胞において脂質の蓄積を誘導することが分かりました(図 4)。今回の研究から、遊離アミノ酸代謝・フマル酸代謝が非アルコール性脂肪性肝疾患の新規治療ターゲットとなることが期待されます。

【用語説明】

- 注1. 門脈: 胃や腸で吸収された栄養分などを肝臓へ運ぶ血管。
- 注2. アミノ酸: 生体のタンパク質を構成する有機化合物の総称。
- 注3. 酸化ストレス応答: 生体が酸素を使って生命を維持する中で産生される活性酸素やフリーラジカルは、細胞を構成する脂質・タンパク質・核酸などを酸化しストレスを与える。この酸化ストレスは様々な病気の原因となるが、酸化ストレス応答はこの変化を回避するための防御機構として働いている。
- 注4. Nrf2: 酸化ストレス応答の中心タンパク質
- 注5. オルガノイド: 試験管内で複数の細胞種から創出される、生体臓器に類似した構造や機能を有する三次元組織。
- 注6. 超低密度リポタンパク質: 肝臓で生成されて血中に放出される物質であり、肝臓内の脂質を放出し末梢組織に供給する役割を果たす。

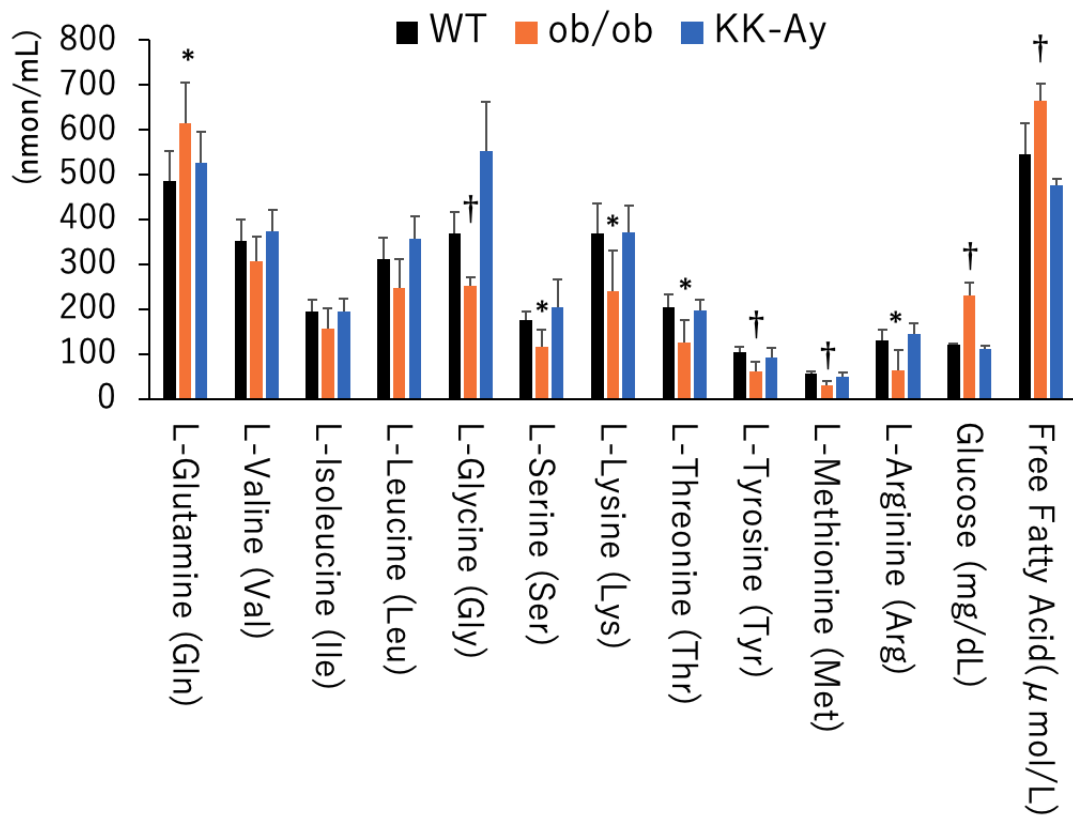
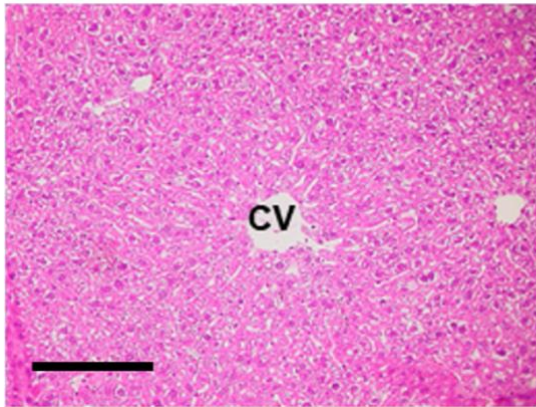


図 1. 脂肪肝モデルマウス (ob/ob) の門脈血中遊離アミノ酸濃度

脂肪肝モデルマウス (ob/ob) は通常マウス (WT) に比べ、過栄養を反映して門脈血中遊離脂肪酸やグルコース値は高い。一方で、メチオニンやチロシンを含む 7 種類の遊離アミノ酸は低値であった。KK-Ay: 肥満・糖尿病モデルマウス (この時点で脂肪肝なし)

高脂肪食



メチオニン・チロシン制限高脂肪食

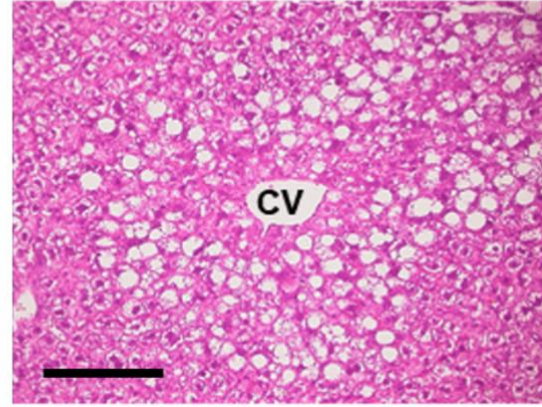
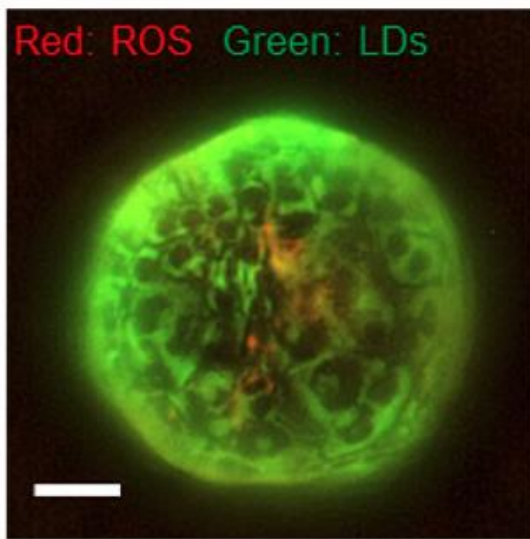
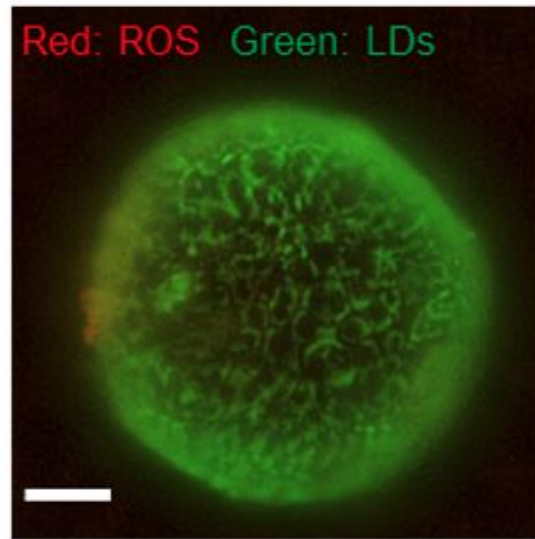


図 2. メチオニン・チロシンを欠乏させた高脂肪食を与えたマウスの肝病理像
高脂肪食(8週間投与)のみではほとんど脂肪肝を呈さなかったが、メチオニン・チロシンを制限することで肝臓内に脂肪が蓄積していることが観察された。CV: 中心静脈



コントロールマウス



Nrf2過発現マウス

メチオニン・チロシン欠損培地

図 3: マウス肝由来オルガノイドによる、メチオニン・チロシン制限環境下における脂質の蓄積と活性酸素種(ROS)産生
メチオニン・チロシン制限環境下ではコントロールマウス由来オルガノイドに脂質の蓄積(緑色)を ROS(赤色)の産生が観察されるが、Nrf2 過発現マウス由来オルガノイドでは抑制された。

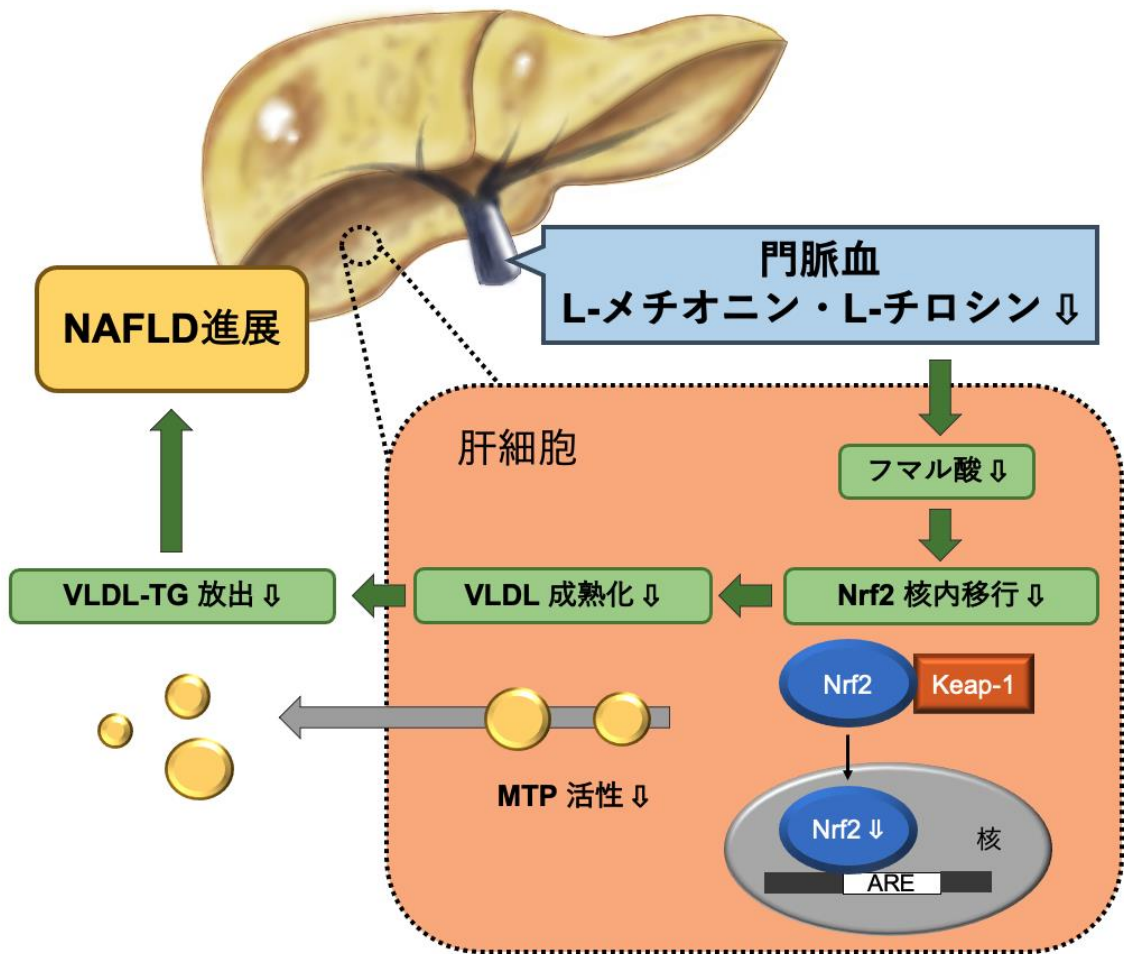


図 4: 本研究の概念図

脂肪肝モデルマウスの門脈血では 7 種類の遊離アミノ酸レベルの低下を認めた。このうちメチオニンおよびチロシンの低下は肝内フマル酸レベルの低下・核内 Nrf2 レベルの低下を介し、超低密度リポタンパク質 (VLDL)^{注6}成熟化を抑制し非アルコール性脂肪性肝疾患の進展を促進した。

【論文題目】

Title: Steatotic hepatocytes release mature VLDL via methionine and tyrosine metabolism in a Keap1-Nrf2 dependent manner.

Authors: Akitoshi Sano, Eiji Kakazu, Shin Hamada, Jun Inoue, Masashi Ninomiya, Tomoaki Iwata, Mio Tsuruoka, Kosuke Sato, Atsushi Masamune.

タイトル: 脂肪変性肝細胞はメチオニン・チロシン代謝を介し Keap1-Nrf2 依存的に成熟 VLDL を放出する。

著者名: 佐野晃俊、嘉数英二、濱田晋、井上淳、二宮匡史、岩田朋晃、鶴岡未央、佐藤公亮、正宗淳

掲載誌名: HEPATOLOGY

DOI: 10.1002/hep.31808

【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院医学系研究科消化器病態学分野

助教 嘉数 英二(かかず えいじ)

佐野 晃俊(さの あきとし)

電話番号: 022-717-7171

Eメール: eiji.kakazu.c4@tohoku.ac.jp

akitoshi.s.1129@gmail.com

(取材に関すること)

東北大学大学院医学系研究科・医学部広報室

東北大学病院広報室

電話番号: 022-717-7149

FAX 番号: 022-717-8931

Eメール: press@pr.med.tohoku.ac.jp