

論文内容の要旨

論文題目 食餌および LOX-1 に起因する酸化ストレスの臓器障害における役割について

指導教官 藤田 敏郎 教授

東京大学大学院医学系研究科
平成 17 年 4 月入学
医学博士課程
内科学専攻
上竹 勇三郎

<背景>

近年、様々な臓器障害に酸化ストレスが介在する可能性が示唆されている。特に、酸化 LDL 受容体である Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) の過剰発現は酸化ストレスの亢進を招き、内皮機能障害、心血管障害を惹起することが報告されている。さらに我々は、非アルコール性脂肪性肝障害との関連にも注目した。これらの病態に局所のレニン・アンジオテンシン系 (RAS) の亢進が深く関与していることが疑われたため、飽食時代の象徴である高食塩・高脂肪食を用い、食餌および LOX-1 と局所の RAS の亢進に起因する酸化ストレスと臓器障害の関連を検討した。酸化ストレスの亢進は様々な臓器障害を誘発することが知られているが、特に慢性腎臓病 (Chronic kidney disease: CKD) と心血管障害との連関に酸化ストレスが介在する可能性が注目されている。酸化ストレスの増加には内臓脂肪の蓄積、糖代謝異常、加齢、RAS など様々な要因があるが、最近、酸化 LDL 受容体である LOX-1 は酸化ストレスの亢進を招き、内皮機能障害、心血管障害を惹起することが報告された。

また、近年、非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) はメタボリックシンドロームの肝障害の病態として注目されている。NAFLD は単純性脂肪肝 (simple steatosis, nonalcoholic fatty liver, NAFL) から脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) までを含む幅広い概念である。原因不明の肝硬変や発癌に NASH が関与するといわれており、NASH への進行を抑制することが重要である。さらにその病態に酸化ストレスが深く関与しているともいわれ、病態の解明が急がれる。

<目的>

食餌および LOX-1 と局所の RAS を介した酸化ストレスの亢進が臓器障害を惹起するという仮説をたて、動脈硬化モデルマウスであるアポ蛋白 E ノックアウトマウス(apoEKO)を用いて、LOX-1 遺伝子の容量依存性(gene titration)を検討することで、CKD および心血管障害と酸化ストレスとの連関を検討した。そこで、食餌も含めより臨床に近いメタボリックシンドロームの病態を意識し実験系を作成した。

<方法>

LOX-1tg/apoEKO、LOX-1WT/apoEKO、LOX-1KO/apoEKO マウスの 3 群を作成し、高食塩・脂肪食を 8 週間負荷することにより、高血圧と脂質異常症、酸化ストレスの悪循環を招き、さらに、LOX-1、RAS が関与することによって何らかの臓器障害が誘発されることを仮説した。さらに、抗酸化薬や angiotensin II type 1 receptor blocker(ARB)を投与し、酸化ストレスを軽減することにより、それらの臓器障害の改善を検証した。

<結果>

高食塩・脂肪食を負荷することにより、すべての群において血圧の上昇を認めた。LOX-1tg/apoEKO マウスに高食塩・脂肪食を負荷した群では腎臓における LOX-1 の発現が亢進し、さらに NADPH オキシダーゼ活性の亢進、NADPH オキシダーゼコンポーネントの mRNA の発現上昇、4HNE および 3 ニトロチロシン免疫染色における濃染、4HNE 蛋白レベルの上昇などの所見を認め、酸化ストレスの増悪が確認された。また、腎臓における局所のレニン・アンジオテンシン系の亢進が認められ、これらの結果、腎動脈のリモデリングが生じた(Figure. 1)。

また、LOX-1tg/apoEKO マウスに高食塩・脂肪食を負荷した群では、肝臓における LOX-1 の発現が亢進し、Masson-trichrome、 α SMA 染色の所見上、著明な線維化を認めた(Figure. 2)。さらに血清ヒアルロン酸値の上昇、PAI1、TGF β の mRNA の発現亢進からも線維化の増悪が疑われた。さらに、NADPH オキシダーゼ活性の亢進、4HNE の免疫染色における濃染、4HNE 蛋白レベルの上昇、NBT 還流実験の結果から酸化ストレスの増悪が確認された。また肝臓における局所のレニン・アンジオテンシン系の亢進も加わり NASH が発症した。

これらの臓器障害は、抗酸化薬、ARB による RAS の抑制で酸化ストレスを軽減することにより改善した。

<考察・結論>

高食塩・脂肪食を負荷することにより、すべての群において血圧の上昇が認められたため、LOX-1tg/apoEKO マウスにのみ認められた血管病変の増悪は血圧非依存性であり、LOX-1 および局所の RAS の亢進に起因する酸化ストレスが重要であると考えられた。本モデルに食塩を負荷することにより、本来、内因性の RAS は抑制され酸化ストレスは軽減すると考えられたが、実際は血圧非依存性に酸化ストレスが増悪し、臓器障害が惹起された。本モデルでは、食餌性に酸化ストレスを亢進させる高食塩食や高脂肪食のみでは臓器障害は発症しないが、酸化ストレスにより生じる酸化 LDL の受け手である LOX-1 が存在すると臓器障害が発症することが明らかとなった。食餌性に LOX-1 の発現が亢進し RAS を介した高酸化ストレス状態が原因となり血管障害や肝障害が惹起され仮説は証明された。局所の RAS の亢進が臓器障害の発症のメカニズムに大変重要な役割を果たしており、本研究においては動脈硬化の進展および NASH の発症に LOX-1 と RAS を介した酸化ストレスの亢進が重要であると示唆された。

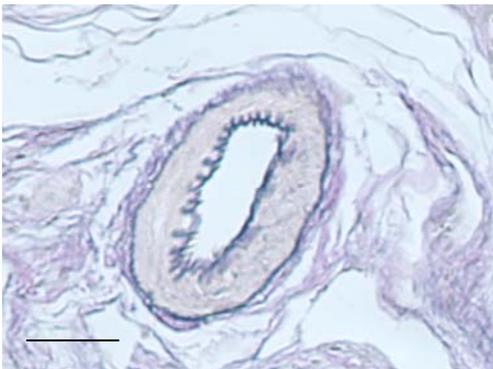


Figure.1. 腎動脈の肥厚所見

腎動脈の EVG 染色。
LOX-1tg/apoEKO マウス HSHF 群で
血管壁の肥厚を認めた。
(X100 スケールは 100 μ m)

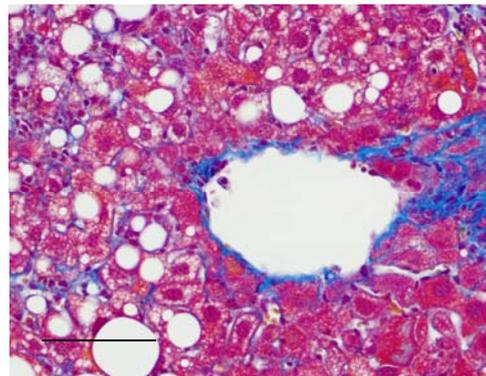


Figure.2. 肝線維化所見

Masson-trichrome 染色所見。
LOX-1tg/apoEKO HSHF 群において
大滴性の脂肪滴を伴う脂肪肝、
中心静脈周囲性肝細胞風船様腫大、
中心静脈周囲性の線維化を伴う
小葉内好中球浸潤、門脈域の線維化を
認め、Matteoni's 分類で type4、
Brunt's 分類で grade2、stage1
に相当する NASH を認めた。
(x100 スケールは 100 μ m)