

トピックス

レシチン：レチノールアシルトランスフェラーゼが 非アルコール性脂肪性肝疾患の病態および肝発癌へ及ぼす影響

The Relationship between Lecithin : Retinol Acyltransferase and Non-alcoholic Steatohepatitis-Related Liver Tumorigenesis

非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) は、一定量のアルコールの日常的な摂取がないにも関わらず現れる脂肪性肝疾患である。NAFLD は生活習慣病と深い関連があり、メタボリックシンドロームの肝臓における表現型と考えられている。日本でも食生活の変化による生活習慣病の増加に伴い、NAFLD の罹患者が増加しており、日本での NAFLD の有病率は 29.7% と報告されている¹⁾。特に NAFLD のなかでも炎症や線維化が見られ、進行性である非アルコール性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) は肝硬変や肝臓癌へと進展するため、公衆衛生上の深刻な問題となっている。一方で、NAFLD/NASH のメカニズムや治療法は不明な点が多く、診断にあたり組織観察を要し、確立されたバイオマーカーも存在しない²⁾。

NASH の線維化は、ビタミン A 貯蔵細胞である肝星細胞が活性化することによって起こる。この肝星細胞は、全身のビタミン A の大部分を貯蔵している。肝星細胞はビタミン A を貯蔵するにあたり、レシチンレチノールアシルトランスフェラーゼ (Lecithin : retinol acyltransferase, LRAT) によりビタミン A をレチニルパルミテートにエステル化して貯蔵する³⁾。肝星細胞は活性化すると LRAT 発現が低下し、ビタミン A 貯蔵能を失ってビタミン A を放出するようになる⁴⁾。しかし、LRAT およびビタミン A 貯蔵量が NASH の病態の進展に及ぼす影響については不明な点が多い。

Amman らは、*in vitro* においてマウス由来メラノーマである B16F10 に LRAT を過剰発現させ、ビタミン A 代謝に注目して LRAT の抗腫瘍作用に及ぼす影響を調べ、報告している⁵⁾。ビタミン A 量測定の結果では、LRAT 過剰発現によって有意にレチニルパルミテート量が増加し、レチノール、all-trans-レチノイン酸および 4-oxo-レチノイン酸量が減少していた。遺伝子発現

では LRAT 過剰発現により CYP26A1 の発現量が有意に減少していた。そして、レチノールと all-trans-レチノイン酸をそれぞれ培地に添加すると、細胞生存率は LRAT 過剰発現により有意に高くなった⁵⁾。これらの結果から、LRAT は貯蔵型であるレチニルパルミテート合成を亢進し、それに伴い all-trans-レチノイン酸などの腫瘍抑制作用を示すレチノイドの量を減少させているのではないかと Amman らは考察している⁵⁾。

Shirakami らは LRAT をノックアウトしたマウス (LRAT KO) を用い、肝発癌物質であるジエチルニトロソアミン (DEN) 投与による肝発癌と LRAT の関係を報告している⁶⁾。LRAT KO 群では、肝臓の腫瘍発生率、腫瘍数および腫瘍径が有意に低い値を示しており、生存率は高かった。遺伝子発現解析では、レチノイン酸に対応している RAR β や CYP26A1、癌抑制遺伝子 p21 などの発現量が LRAT KO で増加していた。一方で、DEN を活性化させる CYP2E1 や細胞増殖因子の Cyclin D1 の発現量は LRAT KO で有意に減少していた⁶⁾。これらの結果から、LRAT の欠損によりレチノイン酸の合成が亢進し、レチノイン酸量が増加することが DEN 活性化や発癌に関連する遺伝子の抑制に繋がっていると Shirakami らは結論付けている⁶⁾。

以上の 2 つの研究から、LRAT によるビタミン A 代謝の変動が肝臓へ大きな影響を与えていると考えられた。これらのメカニズムが NASH 病態の進展においても共通しているのかを解析することは重要である。そこで、本トピックスでは、LRAT KO の NASH 病態および NASH に伴う肝発癌について報告している Ideta らの研究について紹介する⁷⁾。

Ideta らは対照群としての C57BL/6 自然型 (WT) と LRAT をノックアウトしたマウス (LRAT KO) に生後 48 時間の時点でストレプトゾトシンを 0.2 mg 投与し、4 週齢より高脂肪食で飼育することで 2 型糖尿病をは

はじめとする生活習慣病およびNASHを誘導し、両NASHマウスを16週齢で解剖し、肝臓と血清の病理学的、生化学的および分子生物学的解析を行うとともに、肝腫瘍の解析を行った⁷⁾。その結果、Oil Red O染色を施した肝臓の染色度や肝臓中トリグリセライド量にWTとLART KOの間で有意な差はみられなかったことから、肝臓中のレチノイド貯蔵は肝脂肪化に影響を与えていないことが分かった⁷⁾。一方で、HE染色等による肝腫瘍の解析の結果、WTとLART KOの間で腫瘍径に有意な差はなかったものの、腫瘍発生数および腫瘍数は良性腫瘍、悪性腫瘍ともにLART KOで有意な減少がみられた。これらの結果から、肝臓中のレチノイド貯蔵量の減少は腫瘍形成を抑制していることが分かった⁷⁾。LART KOでは炎症および肝障害の指標である血清中ALT活性やTNF- α の遺伝子発現量が有意に減少していたことから、慢性的な炎症は抑制されていた。さらに、LART KOでは血清中d-ROM/BAP比率、肝臓中過酸化脂質(TBARS)量および4-HNE染色と8-OHdG染色を施した肝臓の染色度に有意な減少がみられ、これらの点からLART KOは酸化ストレスが抑制されていることが分かった⁷⁾。肝線維化の解析を目的としてシリウスレッド染色および α -SMA染色を行った結果、LART KOにおいて肝線維化は有意に抑制されており、線維化促進因子であるTGF- β 、 α -SMAの遺伝子発現量も減少していた⁷⁾。また、細胞増殖の解析において肝臓のPCNA染色およびCyclin D1の遺伝子発現解析を行った結果、LART KOにおいて細胞増殖の有意な減少がみられ、細胞増殖が制御されていると分かった⁷⁾。

このように、LART KOにおいて有意にNASHおよび

肝臓癌の進行が抑制されている1つの理由について、IdetaらはLRATが欠損していることでエステル化出来ないレチノイドがレチノイン酸へと変換され、肝臓におけるレチノイドシグナルが増加している点を指摘している。さらに彼らは、p21、RAR β 等の癌細胞の増殖を抑制するレチノイン酸応答遺伝子の発現亢進がレチノイドシグナルの亢進に寄与していると述べている。また、肝臓における発癌遺伝子のcyclin D1や β -カテニンがLART KOにおいて有意に減少していたことも癌細胞増殖の抑制につながったと述べている^{7,8)}。

LART KOにおいて病態の悪化が抑制されたもうひとつの理由に、酸化ストレスの抑制をあげている。レチノイドシグナルはミクロソームおよびペルオキシソームでの β -酸化の制御によって酸化ストレスの生成を抑制するという報告もあり¹⁰⁾、LART KOにおいてはレチノイン酸量の増加によってレチノイドシグナルが亢進しており、 β -酸化を促進させるPPAR- α 、アシルCoAオキシダーゼ、UCP2などの遺伝子発現が抑制されていたことから、酸化ストレスの生成が抑制されて肝臓中のd-ROMs/BAP、TBARS、4-HNEや8-OHdGなどレベルの低下につながっていると考えられる。さらに、酸化ストレスの抑制は炎症性サイトカインTNF- α 量やALT活性の有意な減少につながっており、それに付随してTGF- β の発現も抑制され、その結果、線維化が抑制されていると考えられた⁷⁾。

したがって、LART KOにおけるNASHおよび肝臓癌の病態は、炎症、線維化および腫瘍形成の点において改善され、それらはレチノイン酸生成の亢進に起因するものであることをIdetaらは明らかにした(図1)。また、酸化ストレスや炎症性サイトカインの発現が抑

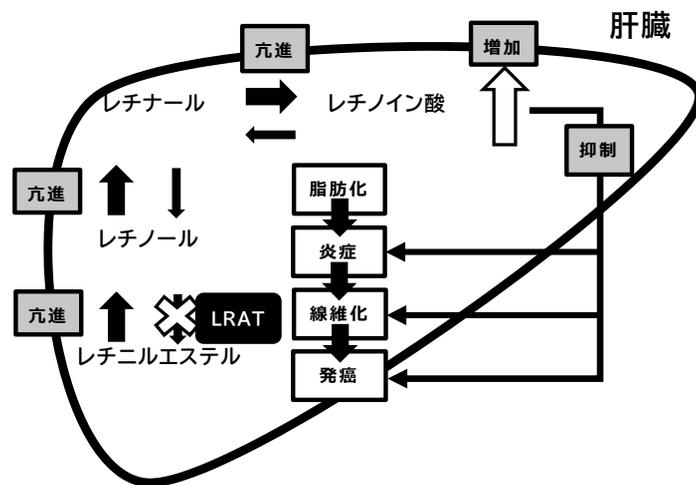


図1 LRAT ノックアウトによるNASH病態進行抑制のメカニズム

制され、しかも脂肪化に変化がみられなかった点から、NASHの病態の進展はDayとJamesにより提唱されたNASH進展の仮説の1つで、first-hitではインスリン抵抗性やメタボリックシンドロームによる脂肪化が起こり、second-hitでは炎症性サイトカインや酸化ストレスにより肝炎を発症すると考えるTwo-hit theoryを支持している¹¹⁾。

LRATのNASHの病態に及ぼす影響において、レチノイン酸レベルの変動が大きな因子となっていると考えられた。NASHとビタミンAの関連は不明な点が多いが、今後これらの関係を解明することによって新たな病態解明、診断方法および治療法の開発につながることを期待する。

(2019.12.23 受付)

Key Words: Vitamin A, Non-alcoholic steatohepatitis (NASH), Hepatocellular carcinoma (HCC), Lecithin: retinol acyltransferase (LRAT), Oxidative stress

Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture
Tomoyuki Motoyama
東京農業大学大学院農学研究科食品栄養学専攻
本山 智之

文 献

- 1) Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, Mizuta T, Ono N, Fujimoto K, Chayama K, Saibara T (2012) Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan, a multicenter large retrospective study. *J Gastroenterol* **47**, 586-595
- 2) 日本消化器病学会 (2014) NAFLD/NASH 診療ガイドライン 2014, 南江堂, 東京
- 3) 吉川究 (2010) ビタミン A- ビタミン A の貯蔵, ビタミン総合事典 (日本ビタミン学会), pp. 16-17, 朝倉書店, 東京
- 4) Senoo H, Yoshikawa K, Morii M, Miura M, Imai K, Mezaki Y (2010) Hepatic stellate cell (vitamin A-storing cell) and its relative- past, present and future. *Cell Biol Int* **12**, 1247-1272
- 5) Philipp M, Czaja AK, Bazhin AV, Rühl R, Ichmüller SB, Merk HF, Baron JM (2014) LRAT Overexpression Diminishes Intracellular Levels of Biologically Active Retinoids and Reduces Retinoid Antitumor Efficacy in the Murine Melanoma B16F10 Cell Line. *Skin Pharmacol Physiol* **28**, 205-212
- 6) Shirakami Y, Gottesman ME, Blenerno WS (2012) Diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis is suppressed in lecithin: retinol acyltransferase-deficient mice primarily through retinoid actions immediately after carcinogen administration. *Carcinogenesis* **33**, 268-274
- 7) Ideta T, Shirakami Y, Ohnishi M, Maruta A, Obara K, Miyazaki T, Kochi T, Sakai H, Tomita H, Tanaka T, Blener WS, Shimizu M (2017) Non-alcoholic steatohepatitis-related liver tumorigenesis is suppressed in mice lacking hepatic retinoid storage. *Oncotarget* **8**, 70695-70706
- 8) 村上善則 (2012) カラー版 内科学—内科疾患と腫瘍学, (門脇孝, 永井良三編), pp. 269-274, 西村書店, 東京
- 9) Al Tanoury Z, Piskunov A, Rochette-Egly C (2013) Vitamin A and retinoid signaling: genomic and nongenomic effects. *J Lipid Res* **54**, 1761-1775
- 10) Yanagitani A, Yamada S, Yasui S, Shimomura T, Murai R, Murawaki Y, Hashiguchi K, Kanbe T, Saeki T, Ichiba M, Tanabe Y, Yoshida Y, Morino S, Kurimasa A, Usuda N, Yamazaki H, Kunisada T, Ito H, Murawaki Y, Shiota G (2004) Retinoic acid receptor alpha dominant negative form causes steatohepatitis and liver tumors in transgenic mice. *Hepatology* **40**, 366-375
- 11) Day CP, James OF (1998) Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* **114**, 842-845