氏　　名	湊（みなと）　貴（たか）浩（ひろ）
学位論文題目	Binge Alcohol Consumption Aggravates Oxidative Stress and Promotes Pathogenesis of NASH from Obesity-Induced Simple Steatosis （肥満に伴う単純性脂肪肝において，機会飲酒は酸化ストレスを悪化させ，NASH への進展を促進する。）

学位論文内容の要旨

研究目的

メタボリック症候群とは，肥満をベースに高脂血症，耐糖能異常，高血圧を合併する症候群であるが，その肝臓での表現型が非アルコール性脂肪性肝疾患（nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD）である。NAFLD には単純性脂肪肝と非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis: NASH）があるが，後者は飲酒歴がなくても病理組織学的にアルコール性肝炎と類似した所見を認め肝硬変や肝癌に進展する点で前者と区別される。NASH の病態の成立には，“two hit theory”， すなわち，first hit である肥満に伴う肝への脂肪沈着に酸化ストレス，脂質過酸化，エンドトキシンなどの second hit が加わり NASH が発症すると想定されている。NASH とアルコール性肝炎は，その原因は異なると考えられるが，いずれにおいても肝の cytochrome P450 2E1（CYP2E1）の誘導が明らかにされている。この CYP2E1 の誘導，活性化亢進が活性酸種（ROS）の産生に関与しており単純性脂肪肝から NASH への進展に働く可能性が示唆されている。一方，NAFLD の診断基準はエタノール摂取量が 20g/日あるいは 140g/週以下とされるが，CYP2E1 が誘導された状態ではたとえ機会飲酒でも，エタノールは CYP2E1 によって代謝され，その結果 ROS が産生されることになる。以上より，肝への脂肪沈着から NASH への進展に機会飲酒が second hit として作用する可能性が示唆される。そこで，本研究では機会飲酒が肥満に伴う肝への脂肪沈着から NASH への進展に“second hit”として働くかどうかを，体重増加と共に２型糖尿病，高脂血症，脂肪肝を自然発症する Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty（OLETF）ラットを用いて検討した。

実験方法

雄の OLETF ラットおよびその wild type である Otsuka Long-Evans Tokushima（OLET）ラットを用いたが，先ず 10，20，30 週齢にそれぞれを屠殺し，肝組織の病理学的変化，CYP2E1 の誘導状態および酸化ストレスの状態について検討した。次いで，30 週齢のラットを用い，週 5，3，2 および 1 日，水あるいは 10%エタノール 10ml を胃管にて投与し，3 週目に屠殺した。採取した血液を用い，血清 AST，ALT， γGTP， 総コレステロール，中性脂肪（TG），グルコース，およびインスリン値を測定するとともに，肝組織中の TG も測定した。また，ホルマリン固定肝組織切片の H&E 染色を行い，脂肪化，炎症および肝

細胞の風船化の程度を 0-3 のスコアで評価し，5 以上を NASH とした。さらに，CYP2E1 および 4-hydroxy-nonenal （4-HNE）を免疫組織学的に染色した。

実験成績

OLETF では，OLET に比べ，加齢とともに体重は増加し，肝組織の CYP2E1 および 4-HNE の染色性も有意に強くなった。また，30 週齢では，OLETF では，肝への脂肪沈着を認め，血清グルコース，インスリン，ALT， TG 値は，OLET に比べ有意に高値を示した。エタノール投与により，OLETF では，肝細胞の風船化を伴う強い脂肪肝炎が認められたが，OLET では明らかな異常所見は認められなかった。OLETF では，血清グルコース，インスリン，ALT ，TG 値は，エタノール非投与群に比べエタノール投与群でいずれも有意に高値を示した。一方，OLET では，それらの血清値にエタノール投与の有無による差は認められなかった。

総括および結論

OLETF ラットは，加齢とともに体重が増加し，30 週齢では，肝への脂肪沈着，耐糖能異常および高脂血症が認められ，ヒトのメタボリック症候群に伴う脂肪肝の研究に極めて適した動物モデルであることが示された。その OLETF ラットに，10%エタノール 10ml を週１日， 3 週間投与することによって，肝の脂肪沈着から NASH が発生したが，OLETF の wild type である OLET では，同量のエタノールを週 5 日投与しても，肝組織には明らかな変化が認められなかった。今回行った研究成績から，週１日（１回）の飲酒であっても，誘導された CYP2E1 によってエタノールが代謝される際に ROS が産生され，その結果，肥満に伴って発生した単純性脂肪肝から NASH が生じることを強く示唆していると考えられた。以上のことは，機会飲酒が，肥満に伴う単純性脂肪肝から NASH への進展の“second hit”として働くことを強く示唆しており，単純性脂肪肝を有する肥満者では，たとえ機会飲酒であっても避けるべきであると考えられた。