

130	NASH病態進行における細胞内小器官異常機構の解明	臼井 達哉
-----	---------------------------	-------

【目的】 近年、アルコール非依存性に脂肪肝を発症し、将来的に肝硬変・肝がんに進行する非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) 罹患者が増加しており、国内には約 1,000 万人以上の患者およびその予備軍が存在する。NASH の前段階の病態である非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) 発症の最も重要な要因は肥満であり、糖尿病、脂質代謝異常、高血圧症などの生活習慣病や、性別、年齢、遺伝的素因も NAFLD/NASH の発症および進展に影響を及ぼすことが知られている。また、最近では酸化ストレスや小胞体 (ER) ストレス、ミトコンドリア機能異常、オートファジーおよび腸内細菌叢の変化なども NASH における肝線維化の進行に関与することが示唆されているが、治療法開発につながる詳細なメカニズムは明らかになっていない。そこで本研究課題では、我々が開発した NASH 肝臓オルガノイドを用いた詳細なメカニズム解明を進めることで、従来の NASH 研究とは異なる切り口で NASH 病態の改善につながる新たな治療薬開発や、有用な診断法の確立につなげることを目的とした。

【方法】 12 週齢の NASH モデルマウスの肝臓組織由来オルガノイドと正常マウスの肝臓組織由来オルガノイドを用いて電子顕微鏡による細胞内小器官の観察を行った後に、活性酸素種 (ROS) 産生、ミトコンドリア呼吸鎖関連分子の発現量の変化を比較した。さらにミトコンドリア融合あるいは重合タンパク質阻害剤を NASH モデルマウス由来肝臓オルガノイドに 6 日間処置した後に、オルガノイドの形態や、線維化関連遺伝子 collagen I および α -SMA 発現に及ぼす影響を検討した。

【結果】 NASH 肝臓オルガノイドにおいて正常肝臓オルガノイドに比べて脂肪滴および粗面小胞体の増加、ミトコンドリアの形態異常 (変形や膨化) が観察された。そこで、ミトコンドリア由来の ROS 産生を、mtSOX を処置して観察したところ、NASH 肝臓オルガノイドにおいてスーパーオキシド産生の増加が認められた。さらに、NASH 肝臓オルガノイドにおいてミトコンドリア分裂・融合関連タンパク質 MF1、DRP1 および OPA1 発現が亢進することが明らかになった。ミトコンドリア分裂阻害剤 Mdivi-1 を NASH 肝臓オルガノイドに 6 日間処置したところ、NASH 肝臓オルガノイドで特徴的に認められる樹状様形態を減少させ、オルガノイドの平均サイズを増加させた。さらに、Mdivi-1 処置は NASH 肝臓オルガノイドにおいて DRP1 タンパク発現を減少させ、Collagen I および α -SMA の mRNA 発現を抑制した。しかしながら、NASH 肝臓オルガノイドに OPA1 阻害剤を 6 日間処置した際には NASH 肝臓オルガノイドの形態変化には影響を及ぼさなかった。これらの結果から、我々が開発した NASH モデルマウス由来肝臓オルガノイドにおいてミトコンドリアの機能異常による活性酸素種の異常産生が線維化の進展に影響を及ぼすことが初めて明らかになった。

正常の肝臓オルガノイドと NASH 肝臓オルガノイドにおける細胞内小器官の構造比較

