

Title	Rho/Rho kinase is a key enzyme system involved in the angiotensin II signaling pathway of liver fibrosis and steatosis
Sub Title	肝線維化と脂肪化においてはアンジオテンシンII伝達経路に関わるRho1Rhoキナーゼが重要な役割を果たす
Author	黒川, 公美
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.4 (2007. 12) ,p.12-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071202-0012">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071202-0012</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Rho/Rho kinase is a key enzyme system involved in the angiotensin II signaling pathway of liver fibrosis and steatosis

(肝線維化と脂肪化においてはアンジオテンシンII伝達経路に関わる Rho/Rhoキナーゼが重要な役割を果たす)

黒川 公美

## 内容の要旨

肝線維化におけるレニンアンジオテンシン系 (RAS) の分子レベル機序は解明されていない。Rhoキナーゼ阻害薬は様々な組織の線維化を抑制し、血管平滑筋のRho/Rhoキナーゼ系はRAS下流に位置する可能性が報告されている。本研究は、肝線維化と脂肪化におけるRho/Rhoキナーゼ系のRASへの関与について検討した。

Wistar系雄性ラットをコリン欠乏食群とコントロール食群に分け、アンジオテンシンII (AngII) 受容体拮抗薬 (ARB: TCV-116), Rhoキナーゼ阻害薬 (Y-27632), 生理食塩水のいずれかを12週間投与後、血清ALT値、ヒアルロン酸、体重、肝重量を測定し、肝の組織学的評価をhematoxylin and eosin (HE), elastica van Gieson (EVG), oil red O染色で行った。活性化伊東細胞を $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) 染色、膜の脂質過酸化を4-hydroxynonenal (4-HNE), フリーラジカルによるDNA障害を8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) 染色で評価した。肝組織のtumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  mRNAをリアルタイムRT-PCR法で測定した。分離伊東細胞にARB活性型代謝物CV-11974またはY-27632を投与後、AngIIで刺激し、transforming growth factor (TGF)- $\beta$ ,  $\alpha$ -SMA mRNAをリアルタイムRT-PCR法で測定した。

血清ALT値、ヒアルロン酸、肝体重量比はコリン欠乏食群で有意に増加し、TCV-116, Y-27632により有意に抑制された。HE, EVG, oil red O染色上、コリン欠乏食群による肝線維化、脂肪化は同2剤により著明に抑制された。コリン欠乏食群で著明に増加した $\alpha$ -SMA, 4-HNE, 8-OHdG陽性細胞は、同2剤により著明に減少した。肝組織のTNF- $\alpha$  mRNAはコリン欠乏食群で有意に増加し、同2剤により有意に抑制された。分離伊東細胞のTGF- $\beta$ と $\alpha$ -SMA mRNAはAngIIの刺激で有意に増加し、CV-11974, Y-27632により有意に抑制された。

ARB, Rhoキナーゼ阻害薬は伊東細胞活性化と肝脂肪化の原因と考えられている活性酸素種、TNF- $\alpha$ の抑制により肝線維化、脂肪化を改善したと考えられた。In vitroの結果より、Rho/Rhoキナーゼ系はRASの受容体から下流にあると考えられ、伊東細胞活性化や活性酸素種の産生への関与が示唆された。

RASは伊東細胞活性化や活性酸素種の産生に重要な役割を果たし、その経路にRhoキナーゼの活性化の関与が考えられた。よって、ARB, Rhoキナーゼ阻害薬は肝線維化、脂肪化を抑制する薬物として有用と考えられた。

## 論文審査の要旨

これまで、肝線維化にレニンアンジオテンシン系 (RAS) の関与が報告されてきたが、その分子レベル機序は解明されていなかった。一方、血管平滑筋細胞において、Rho/Rhoキナーゼ系がRASの下流に位置する可能性が報告されている。本研究では、アンジオテンシンII (Ang II) 受容体拮抗薬 (ARB) 及び、Rhoキナーゼ阻害薬が、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデルであるコリン欠乏食ラットにおいて、肝線維化の主要な役割を担う伊東細胞の活性化や活性酸素種 (ROS), TNF- $\alpha$ の産生を抑制し、肝線維化、脂肪化を改善することを明らかにした。さらに、肝線維化においてもRho/Rhoキナーゼ系がRASに関与していることを示し、これらの薬剤が、肝線維化、脂肪化の治療薬となる可能性が示唆された。

審査ではまず、ARB及び、Rhoキナーゼ阻害薬2剤の肝線維化と脂肪化に対する抑制効果に相違が認められた点に関して質問がなされた。これに対し、本実験において同2剤は伊東細胞を活性化させるTNF- $\alpha$ , ROS, TGF- $\beta$ , Ang IIの産生を抑制したが、コリン欠乏による脂肪酸からリン脂質合成障害の結果起こる中性脂肪の増加の過程に関与していないため、肝線維化に比べ、肝脂肪化抑制が軽度であることが推測されると回答された。次に、 $\alpha$ -SMA陽性細胞が伊東細胞であるかという質問がなされ、他の伊東細胞のマーカーでも染色すべきであるが、対照群では染まらない細胞が線維化に沿って染色され、陽性細胞は活性化伊東細胞であると考えたと回答された。また、4-HNE, 8-OHdG陽性細胞の強拡大写真や、8-OHdG陽性細胞数の対照群の結果について示すべきであると指摘された。次に、ARBとRhoキナーゼ阻害薬の副作用の相違点については、本実験では両者に差がなかったと回答された。また、本モデル以外のNASHモデルとその機序について質問がなされ、その機序にROSも関与している四塩化炭素投与ラットがあると回答された。本モデルでの脂肪酸 $\beta$ 酸化についての質問がなされ、それに対し、ミトコンドリアのCPT IIやベルオキシゾームにおけるカタラーゼの低下が報告されていると回答された。本モデルで脂肪酸 $\beta$ 酸化が低下する理由について質問がなされ、それに対し、脂肪酸エステル化に必要なコリンの欠乏によりリン脂質の合成が障害され中性脂肪が増加した結果、ミトコンドリアでの脂肪酸 $\beta$ 酸化が過剰になり、ROSが増加しミトコンドリア障害が起こることが推測されると回答された。この回答に対し、コリン欠乏によりミトコンドリアでのカルニチン生成がなくなり脂肪酸代謝が低下するのの一因と指摘された。

以上のように、本研究は今後検討すべき課題が残されているものの、RASとRho/Rhoキナーゼ系が肝線維化、脂肪化に関与し、ARB, Rhoキナーゼ阻害薬は肝線維化、脂肪化の治療として期待される点を明らかにし、臨床的にも有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 日比 紀文  
医化学 末松 誠 病理学 岡田 保典  
外科学 北川 雄光  
学術誌認担当者: 池田 康夫  
審査委員長: 末松 誠

試問日: 平成19年 6月29日