HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Inhibition of plasminogen suppresses fibrosis and macrophage foaming in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2022-08-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 友成, 悠葵 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00004170

博士（医学）　友成　悠葵
論文題目
Inhibition of plasminogen suppresses fibrosis and macrophage foaming in a nonalcoholic steatohepatitis mouse model
（プラスミノゲン阻害はマウス非アルコール性脂肪肝炎モデルにおいて線維化及びマクロファージの泡沫化を抑制する）

論文の内容の要旨
［はじめに］
非アルコール性脂肪肝炎（NASH）は世界中で一般的な肝疾患の一つであり、特に先進国では人口の 3%が罹患しているとされている。この疾病はメタボリックシンドロームの肝臓における表現型とみなされており、肥満、高脂血症、糖尿病がリスクファクターとなっているため、先進国を中心に罹患患者は今後ますます増えていくことが予想される。NASH は病態進行とともに肝硬変や肝細胞がんを招くのみならず、動脈硬化を含む循環器系疾患のリスクを上昇させるため臨床上重要な疾患であり、多くの研究が行われているが、未だ NASH の病態進行のメカニズムや治療法は明らかになっていない。最近、NASH の病態を促進するファクターの一つとしてマクロファージの泡沫化が挙げられた。泡沫化したマクロファージは炎症性サイトカインである Interleukin-1β（IL-1β）や Tumor necrosis factor-α（TNF-α）及び線維化を促す Transforming growth factor-β1（TGF-β1）を放出し、NASH 病態とも密接に関係すると考えられている。
マクロファージの泡沫化は oxidized LDL（ox-LDL）の過剰取り込みが原因であることが一般的に知られているが、この ox-LDL の取り込みには血液線溶因子であるプラスミノゲン（Plg）の関与が報告されており、動脈硬化モデルにおいては Plg がマクロファージの泡沫化を促す。しかし、泡沫化病変を伴う NASH 病態においては、Plg による影響を示した報告は未だない。これは、泡沫化病変を伴う NASH 病態動物モデルが、確立されていないことが一因と思われる。
そこで本研究では、泡沫化病変を惹起すると考えられる遺伝子組み換え高脂血症マウス（*Ldlr*$^{-/-}$/*Apobec1*$^{-/-}$（LA）マウス）を用いたマクロファージの泡沫化を伴う新規 NASH 病態動物モデルの構築を目指した。さらに、そのモデルを用いて、NASH 病態での Plg の役割を検討した。
［材料ならびに方法］
実験は以下の承認を受けて行った。
動物実験委員会　動物実験計画承認番号：2020070
組換え DNA 実験安全委員会　組換え DNA 実験承認番号：30-07
新規 NASH モデルを構築するため、雄性の野生型マウス（n=20）と LA マウス（n=19）を用いて生後約 2 日齢にストレプトゾトシンを投与し、離乳後（4

週齢）から高脂肪食を給餌した。6、10、14 週齢において肝臓及び血液を採取し、肝臓病理学的評価及び血液生化学的評価を行った。

Plg の阻害薬であるトラネキサム酸（TXA、0.5%）を飲水に混ぜ、構築した LA マウス NASH モデルに離乳後（4 週齢）から 6 週間投与した。また、LA マウスに Plg をノックアウトした（LAP）マウスで NASH モデルを作製した。それら 10 週齢マウスから肝臓と血液を採取し評価した（LA：n=6、TXA：n=8、LAP：n=6）。さらに、フローサイトメトリーにより肝臓からマクロファージを採取し、qPCR にてマクロファージが産生するサイトカイン IL-1β、TNF-α、TGF-β1 の mRNA 量を測定した。また、in vitro において、Plg のマクロファージ由来サイトカイン産生に対する影響について検討した。10 週齢の LA マウス（n=7）の腹腔内マクロファージを用いて、ox-LDL（25 μg/mL）と Lipopolysaccharide（LPS、1 μg/mL）で刺激したときの TXA（200 μM）の効果をサイトカインの mRNA 量で評価した。

［結果］

LA マウスではマクロファージの泡沫化が認められたが、野生型マウスでは変化がなかった。さらに、野生型マウスに比べて、LA マウスでは肝臓の線維化が有意に亢進した。一方、NASH 診断時に用いられる病理診断基準である NAFLD activity score（NAS）では、野生型マウスと LA マウスとでは差は認められなかった。血液検査では、中性脂肪、総コレステロール、LDL コレステロールが野生型マウスに比べ、LA マウスにおいて有意に増加した。LA マウスにおける TXA の投与や LAP マウスでは、マクロファージの泡沫化及び線維化を有意に抑制した。一方、NAS 及び血液検査では、TXA の投与や LAP マウスと比べ、差は認められなかった。肝臓マクロファージ由来サイトカインの mRNA 発現量に関して、TXA 投与と LAP マウスでは TGF-β1 と IL-1β の mRNA 発現を有意に抑制したが、TNF-α の mRNA 発現には変化がなかった。また、in vitro 実験においても TXA は腹腔内マクロファージの TGF-β1、IL-1β の mRNA 発現を有意に抑制した。

［考察］

今回の研究から Plg は、肝臓のマクロファージ泡沫化を促進することによりサイトカイン産生を増加させ、肝臓の線維化に寄与していることを示した。これまで Plg は様々なマトリックスメタロプロテアーゼの活性化に関与し、コラーゲンを除去することから組織線溶に関連すると報告されているが、Plg が線維化を促進するという本研究の結果は新たな知見である。これは、マクロファージの泡沫化を伴った新規 NASH 病態動物モデルの構築ができたことによるものと考えている。マクロファージの泡沫化は TGF-β1 や IL-1β といったサイトカインの放出を介して NASH の線維化に関与していることが示唆された。今後、Plg の受容体の関与を含めたメカニズム解明を行うことで創薬のターゲットを見出すことができると思われる。

［結論］

本研究では、新規 NASH 病態動物モデルを確立できた。本モデルを用いて、肝臓マクロファージ泡沫化を促す Plg が、NASH 病態における肝臓線維化の亢進に関与していることを示した。