

# 学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 臨床医学系講座 循環器・腎臓内科学分野	氏 名	たまい やすゆき 玉井 康将
-----	---	-----	-------------------

## 主論文の題名

Branched-chain amino acids and L-carnitine attenuate lipotoxic hepatocellular damage in rat cirrhotic liver

## 主論文の要旨

肝臓は脂質、糖質、タンパク質などの栄養素を代謝する中心的臓器であり、肝硬変では蛋白エネルギー低栄養状態(protein energy malnutrition;PEM)が認められる。PEM は肝硬変患者の全生存率(overall survival;OS)、生活の質(QOL)を低下させることが知られているが、分岐鎖アミノ酸製剤(branched chain amino acid;BCAA)やレボカルニチン製剤(carnitine;CA)の補充など栄養療法を行うことで OS、QOL とともに改善することが報告されている。BCAA の投与は血清アルブミン値を改善させるだけでなく、肝硬変や肝細胞癌の予後を改善させる。また、CA の投与は、肝硬変患者において高アンモニア血症やこむら返りに対して有用性が報告されており、QOL を改善させる。実臨床において、BCAA と CA が併用される機会も多いが、同時併用した時の肝臓への影響は十分に解明されていない。今回我々は、肝硬変モデルラットを用いて BCAA と CA 製剤の併用による肝臓への影響を検討した。

Wistar 系ラット 7 週齢に四塩化炭素を 4 週間投与し、肝硬変モデルラットを作成した。続いて、四塩化炭素投与を継続しながら、BCAA(10 g/kg/day)、CA (0.04 g/kg/day)、CA と BCAA (併用)、生理食塩水(対照)を 6 週間投与した。肝内の遺伝子やタンパク質発現の変化を定量性 PCR、immunoblotting、immunohistochemistry にて解析した。また、肝内の脂質と過酸化脂質のリピドミクス解析を LC/HR-MS/MS にて行った。

対照群で上昇した血清 triglyceride(TG)および肝 TG は、全治療群において有意に低下を認めた。全治療群において、肝組織中の脂肪滴の減少がみられ、脂肪滴を保持する Adipophilin の発現も低下しており、脂肪肝の改善がみられた。また、BCAA 群と併用群では血糖値およびインスリン抵抗性の改善を認めた。CA 群と併用群では脂肪合成に関与する sterol regulatory element binding

protein-1c の mRNA 発現レベルは有意に低下し、脂肪分解に関与する carnitine palmitoyltransferase 1A の mRNA 発現レベルは有意に上昇していた。過酸化脂質のバイオマーカーである 4-hydroxynonenal 発現は、肝組織において対照群では上昇していたが、全投与群で減少した。さらに、リポドミクス解析では、対照群で上昇していた過酸化脂質である triglyceride hydroperoxide および phosphatidylcholine hydroperoxide は全投与群で有意に低下し、併用群では相乗的に低下した。ミトコンドリア内膜特異的に局在する膜リン脂質である cardiolipin(CL)は、対照群では有意に低下したが、全投与群において増加していた。特に、CL72:8 といった機能的 CL が上昇しており、ミトコンドリア内膜の機能回復に伴い血清 ATP や肝 ATP も全投与群で有意に上昇していた。ミトコンドリアの biogenesis に関与する mitochondrial transcription factor A の mRNA 発現レベルも、対照群で有意に低下していたが、全投与群で有意に上昇しており、ミトコンドリア機能の改善を認めた。TUNEL 法により肝細胞死を検討したところ、対照群と比べ、TUNEL 陽性細胞は全投与群で有意に減少していた。細胞膜の integrity を反映する膜リン脂質である phosphatidylcholine と phosphatidylethanolamine の比も対照群では有意に低下していたが、全投与群で改善していた。

本研究において、BCAA と CA は脂質代謝、インスリン抵抗性および脂肪肝を改善させ、過酸化脂質を抑制する効果が示された。また、ミトコンドリアの biogenesis を改善し、肝細胞を保護する作用も確認された。さらに、併用効果を認め、肝硬変の治療として BCAA と CA は有用である可能性が示唆された。