

α -Tocopherol Suppresses Hepatic Steatosis by increasing CPT-1 Expression in a Mouse Model of Diet-induced Non-alcoholic Fatty Liver Disease

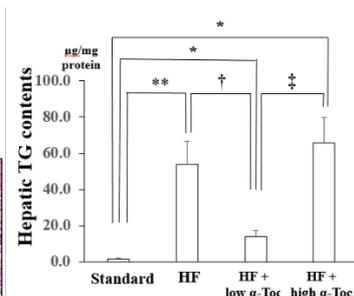
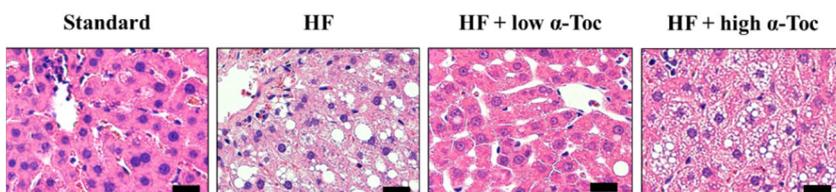
Masanori Tokoro, Koro Gotoh, Yoko Kudo, Yuka Hirashita, Masao Iwao, Mie Arakawa, Mizuki Endo, Junya Oribe, Takayuki Masaki, Koichi Honda, Tetsuya Kakuma, Masataka Seike, Kazunari Murakami, Hirotaka Shibata [✉](#) ... [See fewer authors](#) [^](#)

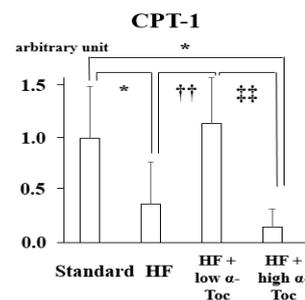
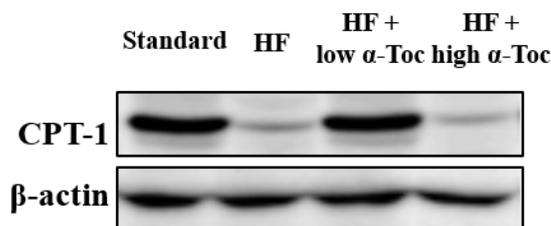
First published: 03 October 2020 | <https://doi.org/10.1002/osp4.460>

論文内容：

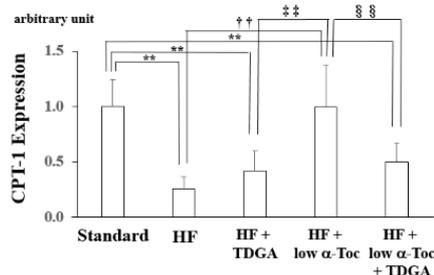
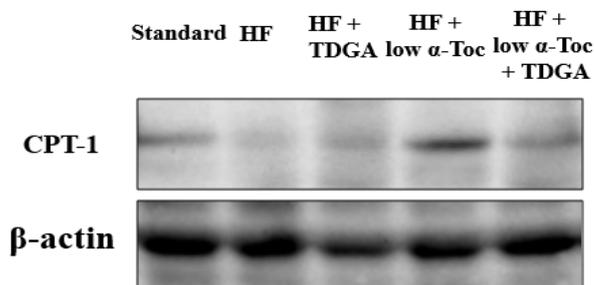
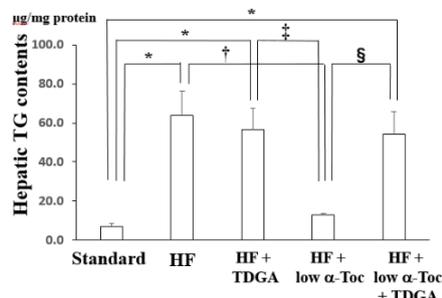
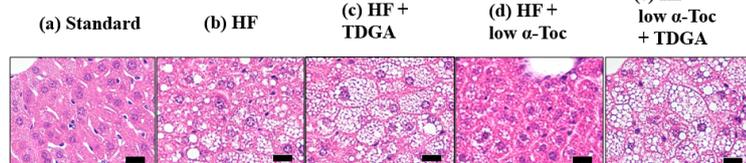
非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)は、過食・肥満による肝への脂肪蓄積と、酸化ストレスなどによる炎症の発生という two hit theory によって、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、肝硬変、肝がんに進展する可能性があることが知られています。抗酸化薬であるビタミンEは治療に広く使われていますが、その有用性に関する報告は一定しておらず、特に高用量での長期投与は安全性が疑問視されています。そこで我々は、ビタミンEの投与量と治療効果の関係が容量依存性ではないという仮説を立てました。研究では、ビタミンEの中で最も抗酸化力の高い α -トコフェロールを、食餌誘導性NAFLDモデルマウスに投与して、その肝脂肪蓄積の抑制効果を評価しました。

まず、8週齢雄C57Black6/Jマウスに、(1)通常食(Standard群)、(2)高脂肪食(HF群)、(3)50 mg/kgの α -トコフェロール(α -Toc)を配合した高脂肪食(HF + low α -Toc群)、(4)200 mg/kgの α -Tocopherolを配合した高脂肪食(HF + high α -Toc群)のいずれかを8週間摂食させ、肝の組織や生化学、脂肪酸代謝を調節する蛋白質を評価しました。すると、Standard群に比べてHF群では肝の脂肪蓄積が増加しましたが、HF群に比べてHF + Low α -Toc群では改善がみられました。また、Western Blotting法でCPT-1の発現が増加していました。CPT-1はミトコンドリアの膜上にある蛋白で、長鎖脂肪酸が β 酸化されるためにミトコンドリア内に輸送される際に重要な蛋白質です。low α -Toc群ではCPT-1の発現を増加させて肝の脂肪化を抑制していることが示唆されました。一方、HF + High α -Toc群では、HF + Low α -Toc群で見られたような肝の脂肪蓄積抑制やCPT-1の発現増加がみられず、容量依存性ではないと考えられました。



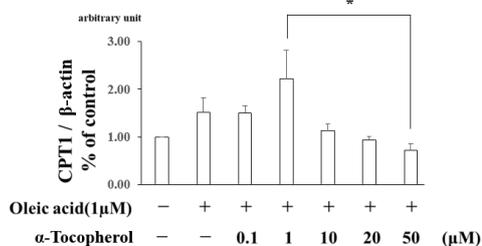
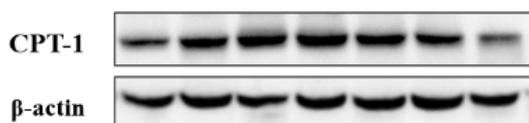


次に、特異的 CPT-1 阻害薬である 2-tetradecylglycidic acid (TDGA)を用いて、 α -トコフェロールが CPT-1 を発現増加させる働きの阻害を試みる実験を行いました。(1) Standard 群、(2) HF 群、(3) HF 群に TDGA を投与 (HF+ TDGA 群)、(4) HF + low α -Toc 群、(5) HF + low dose α -Toc 群に TDGA を投与(HF + low α -Toc + TDGA 群)の 5 群を、肝組織や生化学、CPT-1 の



発現を評価しました。HF に α -トコフェロールを投与すると脂肪肝が改善して CPT-1 の発現が増加しますが、さらに TDGA を投与すると、肝臓内 CPT-1 発現が低下するとともに、肝臓内の脂肪蓄積や血清 ALT 濃度が増加しました。既報において CPT-1 ノックアウトマウスで重篤な脂肪肝や炎症が観察されており、CPT-1 と NAFLD の密接な関連が指摘されています。

Oleic acid(1 μ M)	-	+	+	+	+	+	+
α -Tocopherol(μ M)	-	-	0.1	1	10	20	50



最後に、CPT-1 の活性に関する α -トコフェノールの効果が容量依存的でないことを確認するため *in vitro* で実験しました。1mM のオレイン酸で脂肪負荷した 1% FCS/RPMI-1640 培地で HepG2 細胞を培養し、0 - 50 μ M の種々の濃度の α -Toc を加えました。細胞を回収し

CPT-1 を Western Blotting 法で評価しました。1 μ M までの α -Toc の添加では CPT-1 の発現が増加傾向でしたが、1 μ M 以上では減少傾向となりました。既報においても高用量のビタミン E で肝の脂肪化が抑制されており、今回の結果と矛盾しないと考えられました。

以上のように、 α -トコフェロールは肝臓における CPT-1 の発現に対して二相性の作用を有していると推測され、NAFLD に対して臨床的に有効なビタミン E の投与量は容量依存性ではない可能性が示唆されました。

感想：大学院での研究期間が非常に長期となりましたが、何とか論文という形に残すことができました。この研究には柴田洋孝教授、後藤孔郎先生より多数の御助言、論文の修正をしていただきました。また細胞培養や Western Blotting 法では平下有香先生、工藤洋子さんに御世話になりました。今回の論文は多くの先生方の御協力の賜物と考えており感謝申し上げます。ありがとうございました。



写真右から所 征範先生、後藤孔郎先生。



HIRO's EYE

消化器内科医員 所 征範先生

内分泌糖尿病内科・講師 後藤孔郎先生

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）モデルマウスに対するビタミン E（ α トコフェロール）の効果と機序を検討した論文で、旧第一内科 清家正隆先生グループとの共同研究です。NAFLD における肝脂肪蓄積抑制効果は、 α トコフェロール低用量の時に、CPT-1 発現の増加、 β 酸化の亢進を介して認められたが、一方、高用量では同作用を認めなかったことから、ビタミン E による肝脂肪蓄積抑制効果は用量が重要という結論。臨床的にも非常に有用で現在わが国でも増え続けているメタボリックシンドロームに伴う NAFLD 治療に一石を投じる成果といえます。所先生は私が大分大学に着任した当

時から本研究に従事して、この論文の図表に現れていない予備実験など数え切れない苦勞の上について学位論文がアクセプトされておめでとう！ 「最後まであきらめない」ことの大切さを体中で学んだと思うので、これを糧にこれからも頑張ってください。(柴田洋孝)