

代謝機能不全に伴う脂肪肝の病態に関連する 肝臓の中性脂肪・脂肪酸動態

Hepatic triglyceride and fatty acid dynamics related to possible pathogenesis of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD)

横山 裕一*

慶應保健研究, 42(1), 007-018, 2024

要旨：代謝機能不全関連脂肪肝の病態理解目的に肝の中性脂肪 (TG)・脂肪酸 (FA) 動態を概観した。肝の FA は、食事、腸内細菌、脂肪組織、de novo 合成、肝の TG 分解、に由来する。コレステロール吸収を抑制する小腸粘膜細胞分子標的薬があるが、同様の TG・FA 吸収阻害薬の開発が待たれる。肝細胞で FA は TG になり、さらに VLDL となり血中に放出され、余剰は脂肪滴の形で細胞内に蓄積される。それらの機序も分子レベルで解明され、VLDL 放出亢進や脂肪滴形成抑制が本症治療の戦略になりうるが、高 TG 血症増悪を伴う両者の臨床応用は難しい。FA は肝の β 酸化 (ミトコンドリア; Mit とペルオキシゾーム; Per), α 酸化 (Per), ω 酸化 (小胞体; ER) で分解される。エネルギー過剰状態では TG de novo 合成が亢進し、中間産物のマロニル CoA が Mit への FA 流入を遮断するため、Per の β 酸化が亢進するが、その際発生する H_2O_2 が除去能力を超えると肝障害を惹起する。即ち、Mit の β 酸化の確保は本症の重要な治療戦略である。 ω 酸化で発生する有毒なジカルボン酸は Per で β 酸化処理されるが、同分子の産生抑制も重要である。チトクローム P450 が関与する ER の ω 酸化では活性酸素が発生し、それはグルタチオン (GSH) で除去される。その需要亢進に伴う GSH 産生酵素 γ GTP の誘導は本症の血中 γ GTP 活性上昇の機序の一部と考える。

keywords：ミトコンドリア, ペルオキシゾーム, ミクロゾーム, 脂肪酸酸化, 脂肪滴
Mitochondria, Peroxisome, Microsome, Fatty acid oxidation, Lipid droplet

はじめに

近年、社会的にも肥満に伴う肝障害への懸念が高まり、非アルコール性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) の概念が提唱された¹⁾。その呼称は近年、代謝機能不全関連脂肪肝 (metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease; MASLD) に変更されたが²⁾,

その病態の理解に肝臓での中性脂肪 (TG) および脂肪酸 (FA) の動態の理解が必須である。本稿ではその最近の所見を俯瞰し、MASLD の病態と治療戦略を考察した。

*編集注) 本論文の図表のカラー版は慶應義塾大学保健管理センターホームページ (HP; <https://www.hcc.keio.ac.jp/ja/index.htm>) > 研究 > 慶應保健研究第42巻第1号 (2024年) を参照

*慶應義塾湘南藤沢診療所
(著者連絡先) 横山 裕一 〒252-0882 神奈川県藤沢市遠藤5322

1. 肝臓の中性脂肪・脂肪酸の取り込み

(経口摂取された中性脂肪の小腸での取り込みと肝臓への輸送)

経口摂取されたTGは腸管内で胆汁乳化を受け、膵臓由来のリパーゼでFAとmonoacylglycerol (MAG) に分解され、FAは小腸上皮のfatty acid transporter protein (FATP) というトランスポーター (輸送担体) で小腸細胞に吸収される。FATPは1～6の6種が知られ、小腸にはFATP4が発現している²⁾。一方、MAGはコレステロール、リン脂質、胆汁酸などと共にミセルという集合体を形成し、Niemann-Pick type C1-like 1 (NPC1L1) という輸送担体で小腸細胞に吸収される³⁾。

吸収されたFAの一部は小腸のエネルギー源になるが、残りはmonoacylglycerol acyltransferase (MGAT) の作用でMAGに付加され、diacylglycerol になり、更にacyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT) の作用でTGに戻る⁴⁾。一方、コレステロールは、acetyl-CoA acetyltransferase-2によりコレステロールエステル (CE) に変換されるが、TGとCEはmicrosomal triglyceride transfer

protein (MTP) の作用でApoB-48蛋白、リン脂質などと共にカイロミクロン (CM) を形成する⁵⁾。

現在、MTP阻害薬、NPC1-like1阻害薬が高コレステロール血症治療薬として臨床で用いられている。一方、TGの薬剤としてDGAT阻害薬が開発中である。

CMはリンパ管経由で体循環に入り、血中のhigh density lipoprotein (HDL) からapoC-II蛋白 (apoC-II) およびapo-E蛋白 (apoE) を受け取る。すると、CM表面に表出したapoC-IIが、筋肉組織や脂肪組織などの血管内腔表面に表出するlipoprotein lipase (LL) を活性化し、その活性化LLの作用でCM内の多くのTGはFAとMAGに分解され。それらは各組織の細胞に取り込まれ利用される。また、この反応で残ったFA・TGを含む残滓 (カイロミクロンレムナント; CMR) は肝臓へ運ばれる⁴⁾ (図1)。尚、体循環を回るCMRは肝動脈を通り、肝臓へ運ばれるが、肝動脈は肝臓内で門脈と合流しているため、最終的にそれらは門脈の類洞で肝細胞に吸収される。

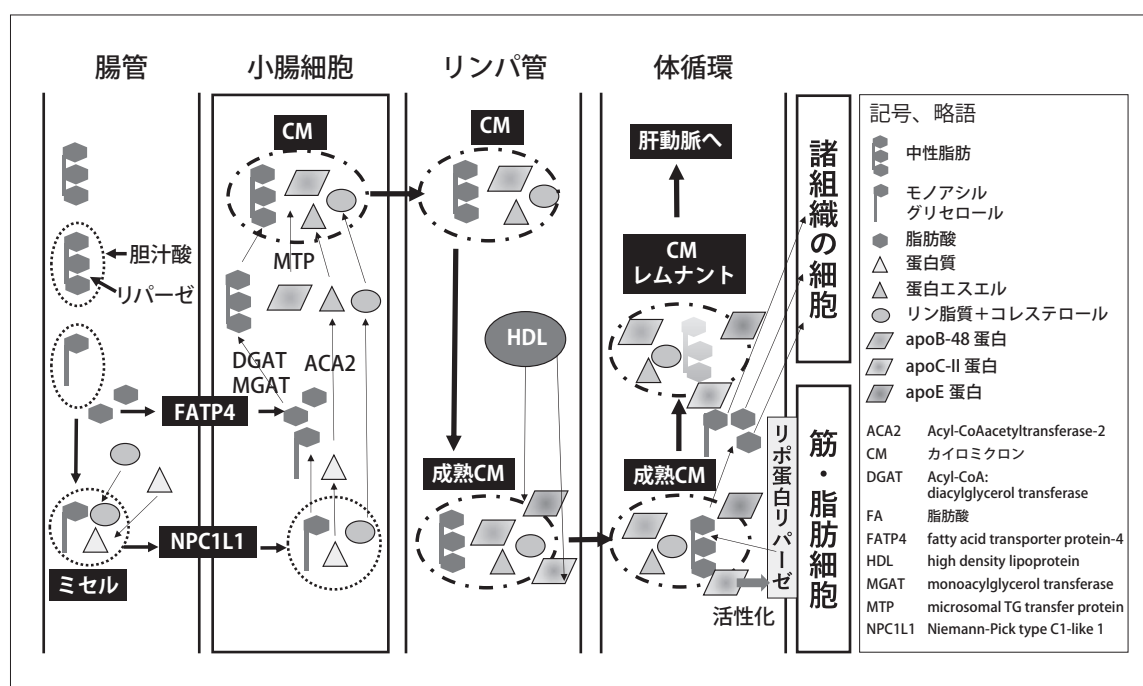


図1 腸管由来の中性脂肪、脂肪酸の体内動態 (体循環まで)

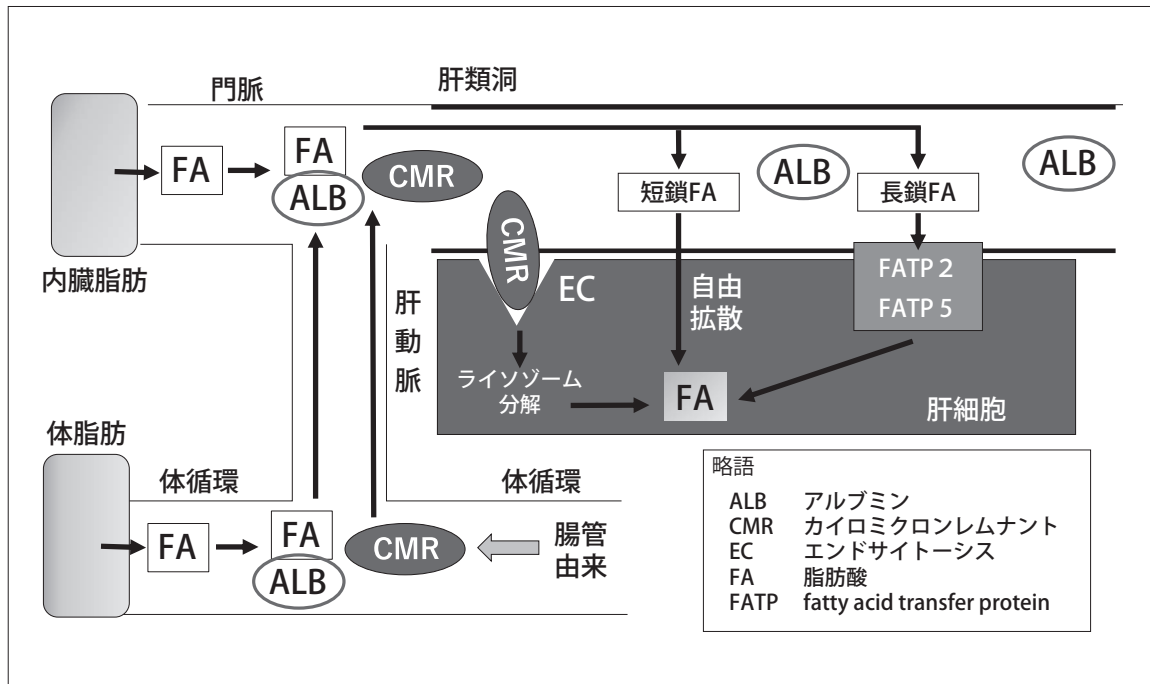


図2 肝臓による脂肪酸の取込み

（経口摂取，または腸内細菌由来の脂肪酸の小腸での取り込みと肝臓への輸送）

ヒトの腸内細菌は，食物繊維などから酢酸，プロピオン酸，酪酸など短鎖FAを，またアミノ酸から分枝鎖FAを生産する。腸内細菌によるこれらの分子産生は腸管のpHの変化に影響を受ける⁶⁾。

また，食餌からもFAが摂取されるが，それは，体内で合成可能なFAと生体に不可欠だが体内での合成不能なFA（必須FA；リノール酸， α -リノレン酸，アラキドン酸，DHA，EPAなど）に分類される。これらのFAも上述のFATP-4で小腸細胞に取り込まれる⁴⁾。

（脂肪細胞由来の脂肪酸の肝臓への輸送および肝細胞内の中性脂肪由来の脂肪酸）

エネルギーが不足している状態，即ち，インスリン濃度が低い状態では，脂肪細胞からFAが血液中に放出される⁴⁾。血液中に放出されたFAはアルブミンと結合し，体循環を回り，肝動脈，門脈を経由して肝臓に届けられる。尚，内臓脂肪から放出されたFAは直接門脈を経由

して肝臓に運ばれる⁴⁾。

さらに肝細胞では，肝細胞内に蓄積されたTGの分解によってもFAが供給される。

（肝細胞の中性脂肪・脂肪酸の取り込み）

CMRは肝細胞のレムナント受容体でエンドサイトーシスにより肝細胞に取り込まれる。そのエンドサイトーシスにCMRのapoEが必須である。肝細胞内でCMRはライソゾームで代謝され，CMR中のFA・TGが遊離する⁴⁾（図2）。

アルブミン結合で肝臓に運ばれたFAは，肝細胞表面でアルブミンが外れ，肝臓に取り込まれる。その際，低分子（短鎖）FAは，肝細胞膜（脂質二重膜）の自由拡散により，自由拡散できない高分子（長鎖）FAは肝細胞膜に表出するFATPにより，肝細胞に取り込まれる。FATPはFAの小腸での取り込みの項で言及したが，肝細胞表面ではFATP2と5が表出している³⁾（図2）。他に，肝細胞のFA取込みに，FABPpm，CD36；FA translocase，caveolin-1などの関与も検討されている。

2. 肝臓での de novo lipogenesis

(脂肪酸産生)

解糖系でブドウ糖から形成されるピルビン酸はミトコンドリアに入り、クエン酸に変換され、クエン酸回路、電子伝達系を介しATP産生に寄与する。しかし、ATPの飽和状態では、クエン酸はミトコンドリアから細胞質へ放出され、さらに de novo lipogenesis (DNL) を介してFAが形成される(図3)。哺乳類では炭素数が16のFAであるパルミチン酸が合成される⁷⁾。

DNLでは、クエン酸がATP citrate lyase (ACL) によりアセチルCoAに変換され、その一部はacetyl-CoA carboxylase (ACC) によりマロニルCoAに変換される。尚、このマロニルCoAは、ミトコンドリア外膜に表出する、ミトコンドリアのFA(実際はFAが修飾を受けたFA-アシルCoA) 取込を司る受容体でcarnitine palmitoyltransferase 1 (CPT-1) を抑制する⁷⁾。即ち、肥満などでATPが過剰になりDNLが亢進すると、ミトコンドリアのFA取り込みは抑制される。このACCは細胞質にあるACC1とミトコンドリア壁細胞質側に表出するACC2があるが、ACC2で産生されたマロニルCoA(ミトコンドリア近傍で産生されたマロニルCoA)

がCPT-1阻害に関わっていると想定される。

このアセチルCoAとマロニルCoAから、Fatty acid synthase (FAS) という4つの反応を持つ酵素複合体の働きでFAが形成される。この反応系では、① 両分子にacyl carrier protein (ACP) が付加され、夫々、アセチルACP(炭素数2)、マロニルACP(炭素数3)に変換され、② 両者が結合するが、その際、脱炭酸縮合が起こり、炭素原子一つが外れ、炭素数4の分子が形成される、③ さらに、その化合物とマロニルCoAとの脱炭酸縮合付加が繰り返され、炭素分子が2分子ずつ増えていき、④ 哺乳類では炭素数16のパロミトイルACPになるとpalmitoyl-acyl-carrier-protein hydrolase (PAH) の働きでACPが外れ、パルミチン酸が形成され、炭素付加も終了する⁸⁾。

(脂肪酸のアシル化とその調節)

肝細胞内の de novo lipogenesis で形成されたパルミチン酸および他経路から供給された長鎖FAに、long-chain acyl-CoA synthetase (ACSL) の作用で補酵素A (CoA) が付加され、FA-アシルCoAとなる。ACSLには1～6のアイソフォームがあり、肝細胞には1, 3, 5が

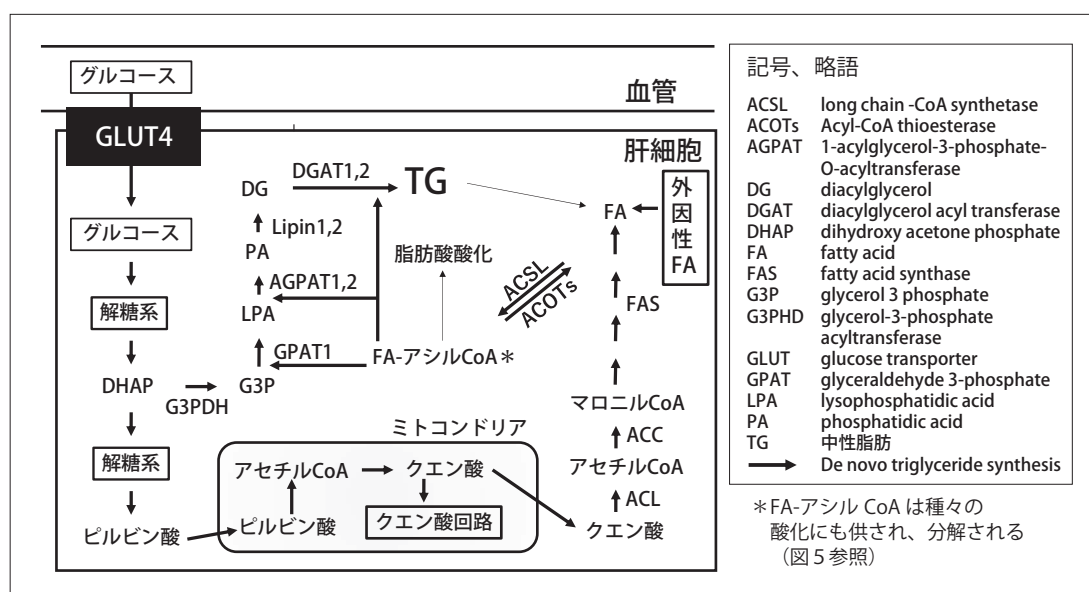


図3 肝細胞における脂肪酸、中性脂肪の合成

発現している⁹⁾。一方、肝細胞にはそのアシル-CoAをFAに戻すアシル-CoA thioesterase (ACOTs) も存在する。本酵素は15タイプが知られ、肝細胞には、1, 2, 11, 13, 15が発現し、このうち1, 11, 13, 15がacyl-CoAをFAに転換する作用を有する¹⁰⁾。即ち、肝細胞内ではACSL/ACOTsの活性比によりアシル-CoA/FA比が調節されている。また、アシル-CoAは種々のFA酸化にも供される(図5, 本稿6項参照)。

(肝細胞内の脂肪酸およびアシル-CoAの移動と脂肪酸の運命)

消化管や血液中から肝細胞に取り込まれたFAおよびDNLで肝細胞内に形成されたFAは、上述したように①アシル-CoAに戻る、②肝細胞内でFA酸化を受ける、場合もあるが、③TGに転換され、very low density lipoprotein (VLDL) を形成し肝臓外に放出される、④脂肪滴として細胞内に蓄積される、加えて、⑤細胞内シグナル伝達や遺伝子発現調節因子として働く、などの運命を辿ることもある⁴⁾。

尚、FAはfatty acid binding protein-1 (FABP-1) やsterol carrier protein 2 (SCP-2) と結合し、細胞内移動の制御を受ける¹¹⁾。またアシル-CoAも、acyl-CoA binding protein (ACBP) やSCP-2への結合で同様に制御されている¹²⁾。

(肝細胞内の中性脂肪合成)

グリセロール3リン酸 (G3P) にFA-アシルCoAが3分子付加することでTGが合成される。G3Pは、解糖系中間代謝産物のジヒドロキシアセトリン酸 (DHAP) からG3Pdehydrogenaseの作用で、産生される(図3)。尚、グルコースのみならず、FA、FA-アシルCoA、アミノ酸もミトコンドリアのTCA回路に入り、糖新生系を介しG3Pに変換されうる⁴⁾。

G3Pから次のステップでTGが合成され

る。即ち、G3Pに①glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) の作用で一つ目のアシル-CoAが付加されlysophosphatidic acid (LPA) になり、②次にLAPにacylglycerol-3-phosphate acyltransferases (AGPATs) の作用で二つ目のアシル-CoAが付加され、phosphatidic acid (PA) になり、③続いてPAはPA phosphatase (PAP; Lipin) の作用で加水分解を受けdiacylglycerol (DG) になり、④最後にDGにDGATの作用で三つ目のアシル-CoAが付加されTGになる(図3)。尚、PAPとDGATの酵素反応の際に夫々、phosphatidylcholine (PC) が一分子形成される⁴⁾。

①のGPATは4つのアイソザイム、即ち、ミトコンドリア外膜の細胞質側に発現する1, 2と小胞体に発現する3, 4が知られる。肝細胞のTG合成にはGPAT1が中心的な役割を果たしている¹³⁾ GPAT1は、エネルギー不足の状態では活性が抑制されTG産生も抑制される¹⁴⁾。またGPAT1欠損マウスではエネルギー状態とは独立に、肝のTG含量、VLDL分泌量、血液中のTG値が減少する。その結果FAが増え、FA酸化が亢進する。GPAT4欠損マウスでも肝のTG含量が減少する¹⁵⁾。

②のAGPATsには10種のアイソフォームがあるが、肝細胞では小胞体にAGPAT1, AGPAT2が発現している¹⁶⁾。

③のPAPには3種のアイソフォームがある。DNLの亢進に伴い、PAPは細胞質から小胞体に移行し、TG合成亢進、VLDL放出亢進に寄与する。PAP1は肝細胞核内にも存在し、その発現は、絶食やステロイド投与で亢進し、ミトコンドリアでのFA β 酸化、細胞内のFA輸送、各肝細胞内小器官膜のFA輸送を高める¹⁷⁾。

④のDGATには小胞体に発現するDGAT1と細胞質に発現するDGAT2があるが、肝細胞ではDGAT1で合成されたTGは主にVLDL合成に用いられ、DGAT2で合成されたTGは主に脂肪滴に貯留されるという、夫々別の機能を有する¹⁸⁾。

DGAT1 欠損ラットでは高脂肪食摂取に伴う肥満やインスリン抵抗性発現が抑制される¹⁹⁾。一方、NAFLD患者でDGAT1 活性は亢進する。また、マウスで、肝臓のDGAT2 活性は絶食で減少、食事再開で増加することも示されている¹⁶⁾。

3. VLDL 形成と肝臓からの放出

肝細胞内でapoB-100 蛋白 (apoB-100) にTG, リン脂質, コレステロールが付着しVLDL が形成されるが、このプロセスは小胞体で始まる。DGAT1 により小胞体で形成されたTG は、microsomal triglyceride transfer protein (MTP) と付着して小胞体内を移動する。一方、apoB-100 も小胞体に運ばれ、至適な三次構造になり、そこにTGが付着していく。このプロセスはTransmembrane 6 superfamily 2 (TM6SF2) の作用で強化される²¹⁾。

この新生VLDLはエンドサイトーシスで小胞体から出ていくが、その際コレステロールやリン脂質と一緒にとりこまれ、VLDL transfer vesicle (VTV) が形成される。VTVはゴルジ装置に送られ、そこで、さらにapoC-IIやTG

が追加され、成熟したVLDLになり肝臓から放出される⁴⁾ (図4)。

CMと同様に、放出されたVLDLに表出するapoC-IIにより血管内腔表面に表出するLLが活性化され、VLDL中のTGの分解が始まり、その際、形成されFAやグリセロールは諸組織にエネルギー源として提供される⁴⁾。その提供がある程度なされるとVLDLはLDLとなり(図4), LDLは主にCEを諸組織に提供するようになる。尚、LDLは体循環を回り肝臓に戻り、肝細胞のLDL受容体を介し、再度、肝細胞に取り込まれる。

インスリン抵抗性や糖尿病は肝細胞のFA取り込みおよびDNLを亢進させ、更に肝細胞のTG形成、VLDL形成、VLDL放出を亢進させ、血中のTG値を上昇させる。尚、インスリン抵抗性と血中TGは必ずしも相関しないが、その背景の一つに、上述のVLDL形成や放出に関する遺伝子多型に因る機能的個人差も想定される。近年、内臓脂肪からも放出されるtPAがapoB-100に結合しその機能を阻害することが示されている²²⁾。即ち、肥満に伴うtPAの増加はVLDLの合成を阻害し、血中のTGを増加

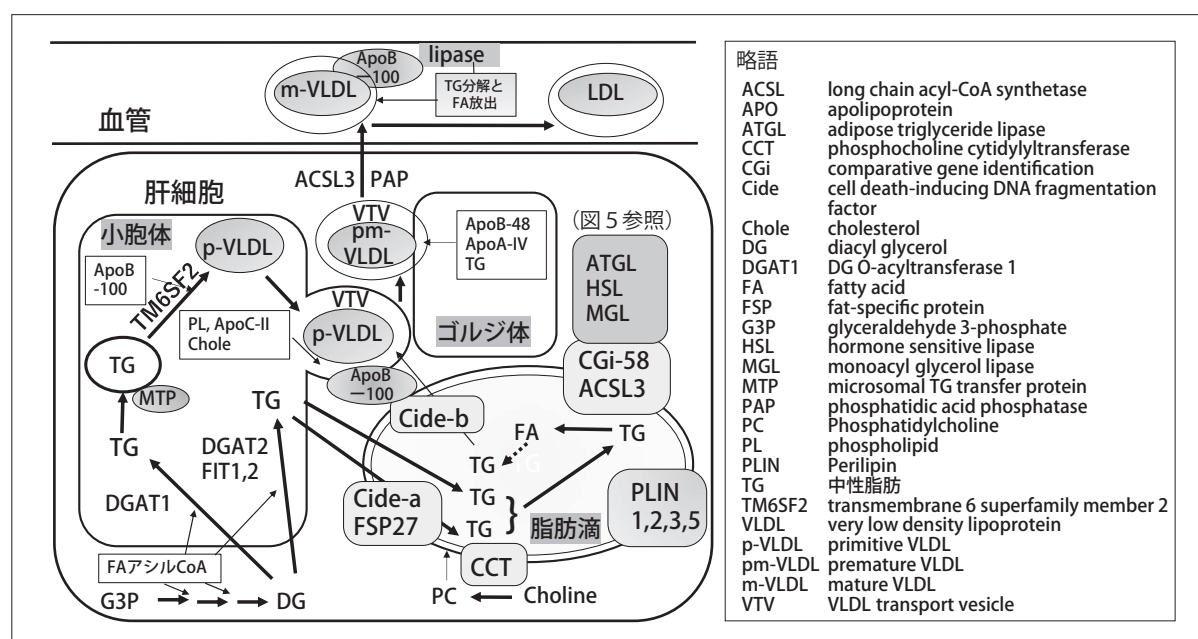


図4 肝細胞におけるVLDL/脂肪滴の合成

させないものの、肝細胞へのTG蓄積を促し、脂肪肝を増悪させる。

4. 脂肪滴の構造と形成 (図4)

(脂肪滴を構成する分子とその機能)

肝細胞内では、余剰の脂肪は脂肪滴に蓄積される。脂肪滴の構成成分の中心はTGで、その多くは小胞体でDGAT2の作用でDGから形成されることを上述した¹⁸⁾。

肝細胞の脂肪滴 (脂肪滴) の外周はリポ蛋白と蛋白質で構成される界面活性を有する単層膜で覆われている。そのリポ蛋白の構成にはPCが不可欠であるが、脂肪滴の膜上に栄養として摂取したコリンからPCを形成する経路の律速段階のCTP-phosphocholine cytidyltransferase (CCT) が表出している²³⁾。

また、脂肪滴膜を構成する中心的蛋白はperilipinで肝細胞ではperilipin2, 3, 5が担い²⁴⁾、それらの発現はPPAR γ 亢進に伴い亢進する²⁵⁾。尚、健常者の肝細胞に発現していないperilipin1がNAFLD患者の肝臓²⁶⁾や肝細胞の脂肪滴に発現する²⁷⁾。一方、perilipin2や3や5のノックアウト (KO) が、肝臓のTG含量の減少²⁸⁾、脂肪肝の発症耐性^{29), 30), 31)}を惹起する。

また、Cell death-inducing DNA fragmentation factor alpha (DFFA)-like effector proteins (Cides; Cidea, Cideb), Fat-specific protein 27 (Fsp27) も脂肪滴の恒常性の維持に必須の蛋白で、小胞体やゴルジ体など他の器官やVTVなどの分子と脂肪滴の融合を促し諸分子の受け渡しを惹起する³²⁾。

Cidebは脂肪滴に普遍的に発現し、VTV表面のapoB-100, Sar1, Sec24と結合し、VTVにTGを受け渡し、VLDLの成熟とその分泌に寄与する。尚、脂肪滴に貯留したTGは、一度、リパーゼで加水分解され、DGやMGになり、DGAT1の作用で再度TGに戻り、VLDLに取り込まれる⁴⁾。CidebをKOすると、肥満耐性が獲得されるが、VLDLの成熟や分泌は阻害され、肝臓への脂肪沈着は増える³³⁾。また、

Cideaを脂肪組織に高発現させるトランスジェニックマウスは肥満になるが、内臓脂肪の機能不全は起こらず、アディポネクチンの低下、インスリン抵抗性の獲得は起こらないとの報告がある³⁴⁾。

小胞体には2種類のfat-inducing transmembrane protein (FIT) 即ち、FIT1, FIT2が発現している。両者ともDGとTGに結合するが、親和性はFIT2の方が高い³⁵⁾。FIT2を過剰発現は肝臓の脂肪滴のTG蓄積増加をもたらす³⁶⁾、FIT2はTGを脂肪滴へ誘導する役割を持っている可能性がある。

Comparative gene identification-58 (CGi-58) も脂肪滴の表面蛋白である³⁷⁾。本蛋白については後述する。

(脂肪滴の大きさを決定する因子)

脂肪肝の原因によって肝細胞内の脂肪滴の大きさが異なる。例えば、アルコール性肝障害では大脂肪滴が多く観察され、代謝機能不全関連脂肪肝では小脂肪滴が多く観察される。上述のPAPについて、PAP1は大脂肪滴形成と、PAP2は小脂肪滴形成と関連しているとされる¹⁸⁾。また、perilipin1, 2も夫々、大型、小型の脂肪滴形成に関与しているとされる¹⁸⁾。一方CideaとFsp27は小胞体と結合し同器官からTGの供給を受けるが、本蛋白は大型脂肪滴に特異的に出現する³⁸⁾。これらの脂肪滴の大きさを決める責任酵素と臨床における脂肪滴の大きさの違いの関連は今後の研究課題である。

5. 肝細胞の中性脂肪分解

(脂肪滴中の中性脂肪分解)

脂肪滴に蓄えられたTGはadipose triglyceride lipase (ATGL) によりDGになり、DGはhormone sensitive lipase (HSL) によりMGになり、MGはmonoacyl glycerol lipase (MDL) により、グリセロール+FAへと変化する。この経路のATGL, HSL, MDLは全て細胞質に存在するが、脂肪滴膜に接着し脂肪滴内での反応にも

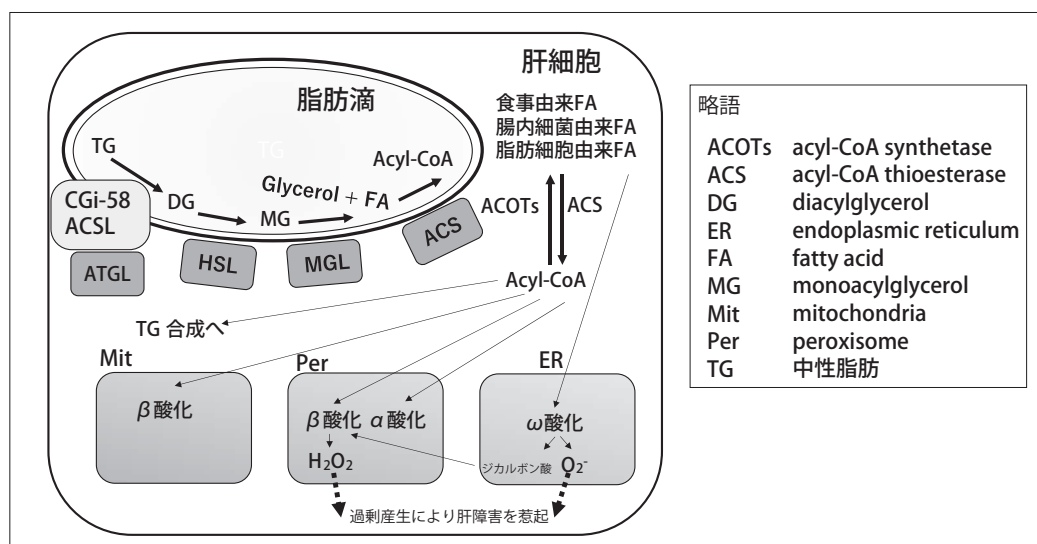


図5 肝細胞における中性脂肪、脂肪酸分解

対応している³⁹⁾。尚、この経路の律速段階酵素ATGLは脂肪滴膜蛋白のCGi-58に結合することで最大の機能を発揮する⁴⁰⁾(図5)。

実際、CGi-58蛋白KOで脂肪肝が発症する⁴¹⁾。また、インスリン抵抗性がCGi-58の発現を抑制し、ATGL機能を抑制し、即ち肝細胞脂肪滴中のTG分解を抑制し脂肪肝を発症させる⁴²⁾。加えて、上述の、FAをアシル-CoAに変換するacyl-CoA synthetase 3 (ACS3)、も同様に脂肪滴膜に付着し、その機能を発揮する(図5)。

(オートファジー機能と中性脂肪分解)

生体はエネルギー、酸素、窒素などのホメオスタシスの崩壊時に発動されるオートファジー機能を有する。これは、細胞内小器官を丸ごと分解し、その中の有効成分をリサイクルする機構である⁴³⁾。3種類のオートファジーが知られるが、肝細胞の脂肪滴ではマクロオートファジーが中心である。このプロセスは小胞が脂肪滴を包みオートファゴソームを形成、リソソーム(lysosome)と融合し、内包成分を分解するものである。肝細胞は飢餓時にこの経路を発動し、FAを取得し、エネルギー供給に供する⁴⁴⁾。肥満者では脂肪滴膜の脂肪比率が変化しており、このオートファジーが阻害されている可能性が

指摘されている⁴⁵⁾。

分子をピンポイントに分解するchaperon-mediated autophagyの機能障害も脂肪肝の発症病理に想定されているが、まだ明確な証拠はない。

6. 肝細胞の脂肪酸酸化

肝細胞のFA分解はミトコンドリア、ペルオキシゾーム、ミクロゾームで行われ、その経路として、①β酸化、②α酸化、③ω酸化の経路が確立されている⁴⁾。

①のβ酸化は、ミトコンドリアおよびペルオキシゾームで行なわれる。両系ともFAをアシル-CoA化し、その後、エイノルCoA→3ヒドロキシアシルCoA→3ケトアシルCoA+アセチルCoA→アシル-CoAと変化させる。途中で、元のFAのα位とβ位が開裂し、炭素数2のアセチルCoA一分子が放出されるので、形成されたアシル-CoAの炭素数は元のアシル-CoAから2つ減る。これを繰り返すことでFAの炭素数が減っていく⁴⁾。ミトコンドリアでは炭素数が4~20程度のFAが酸化される。一方、ミトコンドリアで酸化されるFAに加え、炭素数が22以上の極長鎖FAやいくつかの特殊なFAの酸化はペルオキシゾームが担う。

紙面の関係で詳細は割愛するが、ミトコンドリアとペルオキシゾームの β 酸化では責任酵素が違う。後者の系ではlong chain acyl oxidase またはshort chain acyl oxidaseが働く過程で有毒な過酸化水素 (H_2O_2) が産生され、それは、peroxidaseで消去される⁴⁾。

フィタン酸など β 位に分枝鎖がある特殊なFAは β 酸化できず、②の α 酸化（ペルオキシゾーム）で処理される⁴⁶⁾。本酸化でも、FAはアシルCoA化されるが、元のFAの α 位が水酸化され、カルボキシ基と水酸化した α 位炭素が開裂しアルデヒドが形成され、さらにアルデヒドが酸化されるという経路で、formyl CoAが放出されることで、元のアシル-CoAより炭素数が一つ少ないアシル-CoAが形成され、これを繰り返すことで、FAの炭素数が減っていく。尚、フィタン酸は反芻動物の肉や乳製品に多く含まれる⁴⁷⁾。

FAの一部は③の小胞体の ω 酸化で処理されるが、その全貌はまだ示されていない。本反応では、まず、FAのカルボキシ基の反対側の末端 (ω 位) の炭素が水酸化され、 ω ヒドロキシFAになり、アルコール脱水素酵素の作用でアルデヒド (ω -ケトFA) になり、さらにアルデヒド脱水素酵素の作用でジカルボン酸になるが、この系で炭素数の変化はない。チトクロームP450 (P450) のCYP4AやCYP4Fなどが本経路を担うこともある⁴⁸⁾。その後、ジカルボン酸はペルオキシゾームの β 酸化で処理される。ジカルボン酸は毒性が高く、その増加は脂肪肝の発症リスクとされ、また、本モデルのFAの蓄積は微小胞脂肪症を惹起する⁴⁹⁾。

PPAR α はミトコンドリアおよびペルオキシゾームの β 酸化関連遺伝子、ミクロゾームの ω 酸化に係るチトクロームP450-4A遺伝子の転写を司る。動物実験でPPAR α の発現を抑制すると、脂肪肝が発症し⁵⁰⁾、活性を上昇させると、FA酸化亢進、脂肪肝発症耐性が得られる⁵¹⁾。実際、PPAR α 活性を上昇させるフィブラート系薬剤が脂肪肝の治療に用いられてい

る。しかし、PPAR α 発現レベルと脂肪肝との相関関係は一貫しておらず、PPAR α 刺激でかえって脂肪肝が悪化する場合もある⁵²⁾。

7. 肝細胞の小胞体ストレスと脂肪肝

小胞体はリボゾームで遺伝子から翻訳されたアミノ酸列に修飾を加え、適正な三次元構造を持つ正常蛋白質に成熟させるが、栄養不良、低酸素、変異蛋白質の発現、ウイルス感染、紫外線曝露などで、その機能が障害されると異常蛋白質が小胞体に蓄積する。それを小胞体ストレスと称するが、その解除のために細胞はunfolded protein response (UPR) を発動し、異常蛋白の排除を目指す。しかし、対処しきれない場合は、細胞はアポトーシスを誘導し、自壊する⁵³⁾。

UPRは現在5種同定されているが、主要なものは①PKR-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) 経路、②Inositol requiring1 (IRE-1) 経路、③Activating transcription factor 6 (ATF-6) 経路、(unfolded protein response : UPR) である。紙面の関係で詳細は割愛するが、①では小胞体のリン酸化酵素PERKの自己活性化、②では小胞体のリン酸化酵素IRE-1の活性化、③では小胞体膜のATF6蛋白質の切断が、夫々起こる。その結果、①では、新規蛋白質の翻訳抑制、②ではregulated IRE1-dependent decay (RIDD) と称される不良蛋白質の分解、③では小胞体の折りたたみ機能の強化、が起こる。尚、①と③は、最終的にアポトーシスを誘導する⁵³⁾。

肥満などによる小胞体膜のリポ蛋白の組成変化が小胞体ストレスの原因の一つとされる⁵⁴⁾。一方、小胞体ストレスが、①肝細胞の脂質生成亢進⁵³⁾、②UPR関連遺伝子を介したオートファジーの減少⁵³⁾、③PERKの活性化による肝細胞のVLDL受容体発現亢進⁵⁵⁾などを惹起し、それが脂肪肝の進展と関係づけられている。

8. おわりに

MASLDの病態理解のために、肝臓の中性脂肪・FA代謝に関する最近の所見を俯瞰した。

腸管のNPC1L1 阻害、MTP阻害薬が高コレステロール血症治療薬として用いられているが、腸管でのTGやFAの動態に基づく高TG・FA血症の薬剤開発が待たれる。また、腸内細菌による体内の脂肪動態の是正に基づく脂肪肝の治療の開発も進行中である。

内臓脂肪蓄積は脂肪肝発症の中心的原因で、筆者らも、内臓脂肪蓄積に伴うアディポネクチンの低下と脂肪肝発生の関係性を報告している^{56), 57)}。筆者は、運動、適度な飢餓、睡眠などの生活習慣改善に伴うAMP kinase (AMPK) やHSLの活性化によるDNLの抑制と脂肪細胞のTG分解活性化が脂肪肝の基本的な治療法と考えているが、現在、薬剤や諸分子によるコントロールも研究されている。肝細胞のVLDL形成・排泄促進や脂肪滴形成阻害も脂肪肝の治療戦略と位置付けられるが、これらの実行は血中のTG上昇を惹起するため、これらの治療実現には筋肉などでのFA消費亢進を添える必要がある。

肝細胞のFA酸化亢進は現在の脂肪肝治療戦略の中心的戦略の一つで、実際に、PPAR α 活性化薬が臨床で使用されている。しかし、肥満患者では、時にミトコンドリアのCPT-1がブロックされ、ミトコンドリアへのFA流入とその β 酸化過程が抑制されており、その状況では、ペルオキシゾームの β 酸化が過負荷になると想定される。ペルオキシゾームの β 酸化では H_2O_2 が発生するが、その発生量が同器官のperoxidaseによる処理能力を上回ると肝障害が起こる。また、PPAR α の活性化はペルオキシゾームの ω 酸化も亢進させるが、その結果、有毒なジカルボン酸産生量を増やす可能性も想定される。ペルオキシゾームの β 酸化が過負荷の状況では、このジカルボン酸処理が不十分になり、それが、肝障害を招く可能性もある。これらのことから、ミトコンドリアのCPT-1によるミトコンドリアへのFA取込が抑制されてい

る場合、それを解除し、ミトコンドリアの β 酸化を活性化し、ペルオキシゾームの負担を軽減することは重要と考える。そのためには、マロニルCoAの蓄積を増やさない必要があり、筆者はその基本は上述のAMPKとHSLを活性化する生活習慣の獲得と考える。

尚、 ω 酸化にP450が関与する場合、基質に、NADPH reductaseから供給される電子一分子が付加される。その電子は、NADPH reductaseにより、 O_2 から引き抜かれたもので、その引き抜き後 O_2 は毒性の高い O_2^- (活性酸素) に変化する。その活性酸素の毒性はグルタチオンにより消去されるが、このグルタチオンへの要求が高まると、グルタチオンを供給する γ -glutamyl transferase (γ -GTP) の活性が亢進する。この亢進は、肥満患者における血中の同酵素活性上昇の機序の一部を説明する可能性がある。

文献

- 1) Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease : predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. Gastroenterology 2001 ; 121 : 91-100.
- 2) Eslam M, Newsome PN, Sarin SK et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease : An international expert consensus statement. J Hepatol 2020 ; 73 : 202-209.
- 3) Andreas Stahl A, Gimeno RE, Tartaglia LA et al. Fatty acid transport proteins : a current view of a growing family. Trend in Endocrinol & Metab 2001 ; 12 : 266-273.
- 4) Rodwell VW, Bender DA, Botham KM(eds). In Harper's Illustrated Biochemistry, 31st. McGraw-Hill Education : NY, 2018.
- 5) Xiao C, Lewis GF. Regulation of chylomicron production in humans. BBA-Molecular Cell Biology 2012 ; 1821 : 736-746.
- 6) Fusco W, Lorenzo MB, Cintoni M, et al. Short-chain fatty-acid producing bacteria: Key components of the human gut microbiota. Nutrients 2023 ; 15 : 2211 10. 3390/nu 15092211
- 7) 横山裕一. ミトコンドリア代謝系から考えるアルコール関連疾患. 慶應保健研究2023 ; 41 : 7-20.

- 8) Wakil SJ, James KS, Joshi VC, et al. Fatty acid synthesis and its regulation. *Ann Rev Biochem.* 1983 ; 52 : 537-79.
- 9) Yan S, Yang XF, and Liu HL. Long-chain acyl-CoA synthetase in fatty acid metabolism involved in liver and other diseases : An update. *World J Gastroenterol* 2015 ; 21 : 3492-3498.
- 10) Cohen DE. New players on the metabolic stage : How do you like Them Acots? *Adipocyte* 2013 ; 2 : 3-6.
- 11) Scallen TJ, Nolan BJ, Gavey KL, et al. Sterol carrier protein 2 and fatty acid-binding protein. Separate and distinct physiological functions. *J Biol Chem* 1985 ; 260(8) : 4733-4739.
- 12) Gossett RE, Frolov AA, Roths JB et al. Acyl-CoA binding proteins : Multiplicity and function. *Lipid* 1996 ; 31 : 895-918.
- 13) Yu J, Loh K, Song ZY et al. Update on glycerol-3-phosphate acyltransferases : the roles in the development of insulin resistance. *Nutr Diabetes* 2018 ; 8 : 34.
- 14) Muoio DM, Seefeld K, Witters LA et al. AMP-activated kinase reciprocally regulate triacylglycerol synthesis and fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 ; 340 : 1111-1118.
- 15) Cao G, Konrad RJ, Li SD et al. Glycerolipid acyltransferase in triglyceride metabolism and energy homeostasis-protein as drug target. *Endocrine, metabolic and immune disorders drug targets* 2012 ; 12 : 197-206.
- 16) Takeuchi K and Reue K. Biochemistry, physiology, and genetics of GPAT, AGPAT and lipin enzymes in triglyceride synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009 ; 296 : E1195-E1209.
- 17) Finck BN, Gropler MC, Chen Z et al. Lipin 1 is an inducible amplifier of the hepatic PGC-1 alpha/PPAR alpha regulatory pathway. *Cell Metabolism* 2006 ; 4 : 199-210
- 18) Watermann IJ and Zammit VA. Activities of overt and latent diacylglycerol acyltransferases (DGATs1 and DGATs2) in liver microsomes of ob/ob mice. *Int J Obes* 2002 ; 26 : 742-743.
- 19) Smith SJ, Cases S, Jensen DR et al. Obesity resistance and multiple mechanisms of triglyceride synthesis in mice lacking Dgat. *Nat Genet* 2000 ; 25 : 87-90.
- 20) Meegalla RL, Billheimer JT and Cheng D. Concerned elevation of acyl-coenzyme A:diacylglycerol acyltransferase (DGAT) activity through independent of mRNA expression of DGAT1 and DGAT2 by carbohydrate and insulin. *Biochem Biophys Res commune* 2002 ; 298 : 317-323.
- 21) Smagris E, Gilyard S, BusuRay S et al. Inactivation of Tm6sf2, a gene defensive fatty liver disease, impairs lipidation but no secretion of very low density lipoproteins. *J Biol Chem* 2016 ; 291 : 10659-10676.
- 22) Dai W, Zhang H, Lund H, et al. Intracellular tPA-PAI-1 interaction determines VLDL assembly in hepatocytes *Science* 2023 ; 381 : eadh5207
- 23) Wilfing F, Haas JT, Walther TC, et al. Lipid droplet biogenesis. *CurrO pi Cell Biol* 2014 ; 16 : 691-701.
- 24) Kimmel AR and Sztalryd C. The perilipins: Major cytosolic lipid droplet protein associated proteins and their roles in cellular lipid storage, mobilization, and systemic homeostasis. *Annu Rev Nutr* 2016 ; 36 : 471-509.
- 25) Motomura W, Inoue M, Ohtake T et al. Up-regulates triacylglycerol synthesis and fatty acid oxidation in liver and muscle ; evidence that sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase is a novel target. *Biochem J* 1999 ; 338 : 783-791.
- 26) Greco D, Kotronen A, Westerbacka J et al. Gene expression in human NAFLD. *Am J Physiol* 2008 ; 294 : G1281-1287.
- 27) Staub BK, Stoeffel P, Heid H et al. Differential pattern of lipid droplet-associated proteins and de nove perilipin expression in hepatocyte steatogenesis. *Hepatology* 2008 ; 47 : 1936-1946.
- 28) Fujii H, Ikura Y, Arimoto J et al. Expression of perilipin and adipophilin in nonalcoholic fatty liver disease ; relevance to oxidative injury and hepatocyte ballooning. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2009 ; 16 : 893-901.
- 29) Chang BH, Li L, Paul A et al. Protection against fatty liver but normal adipogenesis in mice lacking adipose differentiation-related protein. *Mol Cell Biol* 2006 ; 26 : 1063-1076.
- 30) Najt CP, Senthivinayagam S, Aljazi MB et al. Liver-specific loss of Perilipin2 alleviates diet induced hepatic steatosis, inflammation, and fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2016 ; 310 : G726-738.
- 31) Wang C, Zhao Y, GaoX et al. Perilipin 5 improves hepatic lipotoxicity by inhibiting lipolysis. *Hepatology* 2015 ; 61 : 870-882.
- 32) Gao G, Chen FJ, Zhao L et al. Control of lipid droplet fusion and growth by CIDE family proteins. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 2017 ; 1862 : 1197-1204.

- 33) Tiwari S, Siddiqi S, and Siddiqi SA. CideB protein is required for the biogenesis of very low density lipoprotein (VLDL) transport vesicle. *J Biol Chem* 2013 ; 288 : 5157-5165.
- 34) Abreu-Vieira G, Fisher AW, Mattsson C et al. Cidea improves the metabolic profile through expansion of adipose tissue. *Nature Commun* 2015 ; 6 : article number 7433.
- 35) Gross DA, Zhan C and Silver DL. Direct binding of triglyceride to fat storage-inducing transmembrane protein 1 and 2 is important for lipid droplet formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 19581-19586.
- 36) Kadereit B, Kumar P, Wang WJ et al. Evolutionarily conserved gene family important for fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 94-99.
- 37) Yu L, Li Y, Grise A et al. CGI-58 : Versatile regulator of intracellular lipid droplet homeostasis. *Adv Exp Med Biol* 2020 ; 1276 : 197-222.
- 38) Xu W, Wu L, Yu M et al. Differential roles of cell death-inducing DNA fragmentation factor- α -like effector (CIDE) proteins in promoting lipid droplet fusion and growth in subpopulations of hepatocytes *J Biol Chem* 2016 ; 291 : 4282-4293.
- 39) Lafontan M and Langin D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Prog Lipid Res* 2009 ; 48 : 275-297.
- 40) Lass A, Zimmermann R, Haemmerle G et al. Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-Dorfman syndrome. *Cell Metabolism* 2006 ; 3 : 309-319.
- 41) Guo F, Ma Y, Kadegowda AK et al. Deficiency of liver comparative gene identification-58 causes steatohepatitis and fibrosis in mice. *J Lipid Res* 2013 ; 54 : 2109-2120.
- 42) Kato M, Higuchi N, and Enjoji M. Reduced hepatic expression of adipose tissue triglyceride lipase and CGI-58 may contribute to the development of non-alcoholic fatty liver disease in patients with insulin resistance. *Scand J Gastroenterol* 2008 ; 43 : 1018-1019.
- 43) Glick D, Barth S, and Macleod KF. Autophagy : cellular and molecular mechanisms. *J Pathol* 2010 ; 221 : 3-12.
- 44) Singh R, Kaushik S, Wang Y, et al. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature* 2009 ; 458 : 1131-1135.
- 45) Koga H, Kausik S and Cuervu AM. Altered lipid content inhibits autophagic vesicular fusion. *FASEBJ* 2014 ; 24 : 3052-3065.
- 46) RJA Wanders, GA Jansen and M\ D Lloyd. Phytanic acid α -oxidation, new insights into an old problem : a review. *Biocim Biophys Acta-Mol and Cell Biol of lipids* 2003 ; 1631 : 119-135.
- 47) Brown PJ, Guam Mei, FB, Gibberd et al. The determination of phytanic acid and phytol in certain foods and the application of this knowledge to the choice of suitable convenience foods for patients with Refsum's disease. *J Hum Nutr Detect* 1993 ; 6 : 295-305.
- 48) Coon MJ. Omega Oxygenases : Nonheme-iron enzymes and P450 cytochromes. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 ; 338 : 378-385.
- 49) Sanyal AJ, Cambell-Sargent C, Mirshahi F et al. Nonalcoholic steatohepatitis : association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001 ; 120 : 1183-1192.
- 50) Hashimoto T, Cook WS, C Qi et al. Defect in peroxisome proliferation-activated receptor α -inducible fatty acid oxidation determines the severity of hepatic steatosis in response to fasting. *J Biol Chem* 2000 ; 275 : 28918-28928.
- 51) Li S, Liu C, Li N et al. Genome-wide coactivation analysis of PGC-1 α identifies BAF60a as a regulator of hepatic lipid metabolism. *Cell Metabolism* 2008 ; 8 : 105-117.
- 52) Begriche K, Massart J, Robin MA et al. Mitochondrial adaptation and dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease *Hepatology* 2013 ; 58 : 1497-1507.
- 53) Almanza A, Carlesso A, Chintia C. Endoplasmic reticulum stress signalling - from basic mechanisms to clinical applications. *FEBSJ* 2019 ; 286 : 241-278.
- 54) Hyslop PA, York DA and Corina FL. Change in the composition and fluidity of membrane in obese (ob/ob) mice : study of hepatic microsomal MADPH-cytochrome P450 oxidoreductase activity. *Int J Obes* 1982 ; 6 : 279-289.
- 55) Jo H, Cho SS, Sin KC, et al. Endoplasmic reticulum stress induces hepatic steatosis via increased expression of the hepatic very low-density lipoprotein receptor. *Hepatology* 2013 ; 57 : 1366-1377.
- 56) Yokoyama H, Hirose H, Ohgo H, et al. Inverse association between serum adiponectin level and transaminase activities in Japanese male workers. *J Hepatol* 2004 ; 41 : 19-24.
- 57) Tomita K, Oike Y, et al. Yokoyama H, et al. Hepatic AdipoR2 signaling plays a protective role against progression of nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Hepatol* 2008 ; 48 : 458-473.