Glycative Stress Research

Online edition : ISSN 2188-3610
Print edition : ISSN 2188-3602
Received : April 18, 2024
Accepted : June 14, 2024
Published online : June 30, 2024
doi:10.24659/gsr.11.2_79

Original article

From fatty liver to steatohepatitis: Involvement of aldehydes

Yoshikazu Yonei [1], Yoshimasa Saito [2], Masayuki Yagi [1], Mari Ogura [3], Kenji Sato [4]

1) Anti-Aging Medical Research Center/Glycative Stress Research Center,
Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan
2) Division of Pharmacotherapeutics, Keio University Faculty of Pharmacy, Tokyo, Japan
3) Kyoto Bunkyo Junior College, Kyoto, Japan
4) Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2024; 11 (2): 79-93
(c) Society for Glycative Stress Research

（原著論文：日本語翻訳版）

単純脂肪肝から脂肪肝炎へ：アルデヒドの関与

米井嘉一 [1]、齋藤義正 [2]、八木雅之 [1]、小椋真理 [3]、佐藤健司 [4]

1) 同志社大学大学院生命科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／糖化ストレス研究センター
2) 慶應義塾大学薬学部薬物治療学講座
3) 京都文教短期大学食物栄養学科
4) 京都大学大学院農学研究科 応用生物科学

抄録

過去80年の間に我々は身体活動量の低下、脂肪摂取の増加に伴う摂取カロリーの増大に晒された結果、肥満、2型糖尿病、脂質異常症、メタボリックシンドローム、脂肪肝／脂肪肝炎といった糖化ストレス（アルデヒド過剰）を伴う疾患が著明に増えた。脂肪肝から枝分かれして脂肪肝炎に進行する過程でアルデヒドはどのように関与するかについて我々の仮説を述べる。なお糖化ストレスはアルデヒド過剰状態、酸化ストレスはフリーラジカルや活性酸素種（reactive oxygen species: ROS）過剰状態と定義する。体内では糖質由来ならびに脂肪酸由来アルデヒドが高血糖や高脂肪食によって過剰に産生され、蛋白・脂質・DNA（シトシン）に糖化修飾を施すとともに、NAD+やGSH（glutathione）を消費しながらGAPDH（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase）、ALDH（aldehyde dehydrogenase）、GLO（glyoxalase）に代謝される。酸化ストレスはGSH低下により強まり、脂肪酸由来アルデヒドは多くは脂肪酸の酸化によって生じることから、脂肪肝が進行すると脂肪酸由来アルデヒド産生量が増加する。肝細胞内NADH/NAD+比の増加によっての脂肪β酸化の減少と脂肪貯留が進行す

連絡先：教授　米井嘉一
同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／
糖化ストレス研究センター
〒610-0321 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
TEL＆FAX：0774-65-6394　e-mail：yyonei@mail.doshisha.ac.jp
共著者：齋藤義正 ysaito@keio.jp；八木雅之 yagi@yonei-labo.com；
小椋真理 m-ogura@po.kbu.ac.jp；佐藤健司 sato.kenji.7x@kyoto-u.ac.jp

(c) Society for Glycative Stress Research

る。DNA修飾はLRP1遺伝子のプロモーター領域を修飾し、LRP1の発現低下に伴い肝細胞の脂質代謝の異常が起こる。蛋白の糖化産である終末糖化産物（advanced glycation endproducts: AGEs）は、マクロファージやクッパー細胞のRAGE（receptor for AGEs）刺激を介して炎症性サイトカイン分泌を亢進させ、炎症を惹起する。1型コラーゲンの糖化修飾は伊東細胞（肝星細胞 hepatic stellate cell）を、GSH低下は線維芽細胞を刺激してコラーゲン産生を増やし、線維化を惹起する。NAD+不足に陥るとTCA回路が不調になりフマル酸が増加、その結果GAPDHはサクシニル修飾を受けてS-(2-succinyl) cysteine-GAPDH（2SC-GAPDH）に転換され活性が低下、未処理アルデヒドが増加するという悪循環に陥る。以上より、脂肪肝から脂肪肝炎への岐路は、アルデヒド過剰によるNAD+不足とそれによるTCA回路の障害にあると推論している。脂肪肝炎の予防には糖化ストレス(アルデヒド過剰)対策が重要であると考えている。LRP1の関与については今後の課題である。

KEY WORDS： 糖化ストレス、グリセルアルデヒド、メチルグリオキサール、GAPDH、ALDH、nicotinamide adenine dinucleotide (NAD+)

はじめに

我々人類は、数十万年以上の長い間、進化の過程で酸化ストレスとの闘いを続けながら、酸化ストレス防御システムを構築してきた。そのシステムは他の動物に比較して突出した精密さを備えている。一方で、我々が糖化ストレスと闘い始めたのはたかだか数十年前からである。交通機関の発達や便利な家電の進歩とともに我々の身体活動量が減り、飽食の時代を迎えたからである。その結果、肥満、メタボリックシンドローム、2型糖尿病、脂質異常症といった糖化ストレスが強い疾患が著明に増加しつつある。これは世界的な潮流である。今回テーマとして取り上げた脂肪肝は、罹患率の増加とどまらず、質的な増悪が顕著となり、炎症と線維化が加わった結果、脂肪肝炎に至る例がある。非アルコール性脂肪肝（Nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD）と非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis: NASH）の10～29％が10年以内に肝硬変を発症し、患者の4～27％が肝細胞癌を発症する[1,2]。脂肪肝炎のリスク因子（肥満、脂質異常症、高血糖、喫煙）には アルデヒドの関与の可能性がある。今回は脂肪肝が脂肪肝炎に進行する過程で何が起きているのか、その機序について糖化ストレスの観点から推論を試みる。単純性脂肪肝に比較して、脂肪肝炎の治療はやっかいである。脂肪肝炎の治療法を確立するための重要な一歩である。

1. 糖化ストレスと酸化ストレスの違い

はじめに酸化ストレスと糖化ストレスについて、領域と区分の観点から見直してみたい。酸化還元反応を単に電子のやりとりと定義すると混乱するので両者の境界が混沌とする。酸化ストレスと糖化ストレスの両者は、わかりやすい定義を用いて、明確に分ける必要がある。糖化ストレスは体内におけるアルデヒドの過剰生成が生じた状態である。アルデヒドは反応性が高いため、血中では血清蛋白や血管内皮細胞の細胞膜と反応する。アルデヒドは常に生成と消失を繰り返し、血中で検出されるアルデヒドは平衡状態にある。さらに、アルデヒドは細胞膜を通過して、細胞内の蛋白や脂質と手あたり次第に反応する。さらに核膜を通過するとDNA構成塩基（シトシン）と反応する。アルデヒドと蛋白質が反応した生成物は、カルボニル化蛋白を含め終末糖化産物（advanced glycation endproducts: AGEs）と呼ばれる[3,4]。脂質の糖化産物としてAmadori-PE（Amadori-glycated phosphatidylethanolamine）がある[5]。

一方、酸化ストレスは、フリーラジカルや活性酸素種（reactive oxygen species: ROS）過剰状態である。酸化反応はビタミンCやEなどの抗酸化物質により抑制されるが、アルデヒドと生体内物質との反応（糖化反応）は抗酸化物質により抑制できない。

糖化ストレス反応の主役はアルデヒドである。生成経路別には、糖質由来アルデヒドと脂肪酸由来アルデヒドに大別できる（*Fig. 1*）[6,7]。前者は、食後高血糖などの血糖スパイクに続発する「連鎖反応的多種アルデヒド生成」により生じる短鎖アルデヒドである[8]。我々はこの現象を「アルデヒドスパーク」と呼ぶ[4]。還元糖（グルコースやフルクトースなど）の一部はアルデヒド基（-CHO）が露出した開環型アルデヒドとなり、周囲の物質と反応し血管内皮細胞傷害を惹起する。開環型グルコース（炭素数＝6）は他のアルデヒドや、酸化ストレス、熱、紫外線の刺激を受けてさらに短鎖のアルデヒドが生成される（炭素数＝2～4）。この中でグリセルアルデヒド（glyceraldehyde: GA）から生成されるAGEsは毒性が最も強く、TAGE（toxic AGE）と呼ばれる[9,10]。一方、後者の脂肪酸由来アルデヒドは脂肪酸の酸化によって生じる。この中でメチルグリオキサール

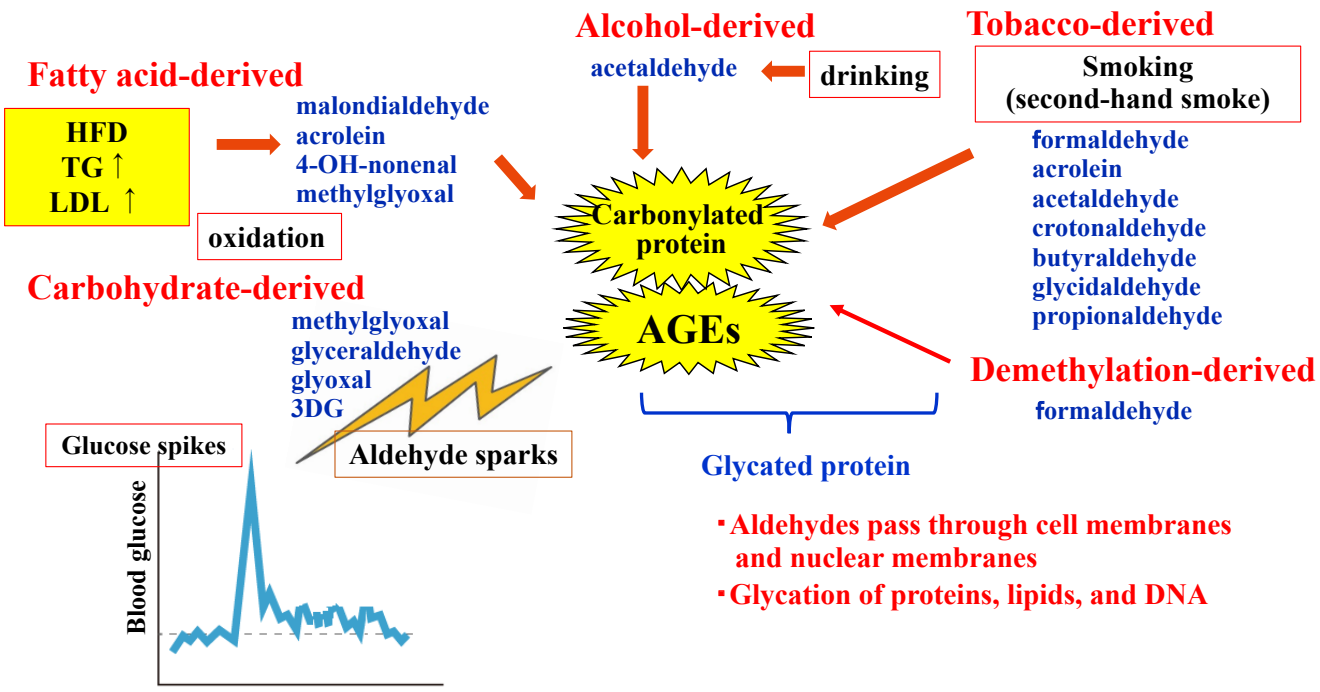

Fig. 1. **The main characters are aldehyde. Where do they come from?**

Aldehydes produced in the body are mainly derived from carbohydrates and fatty acids. Trace amounts of formaldehyde are produced with the demethylation of DNA and histone proteins. Exogenous aldehydes come from drinking alcohol and smoking. HFD, high fat diet; TG, triglyceride; LDL, low-density lipoprotein; 3DG, 3-deoxyglucosone; AGEs, advanced glycation endproducts,

(methylglyoxal: MGO) は糖質ならびに脂肪産から生成されるアルデヒドであり、生体内の様々な疾病形成に関わっている。

エピゲノム変化における脱メチル化過程で、遊離したメチル基からホルムアルデヒドが生成される[11-14]。そのため、健康な人の血液中には、生理的に0.05～0.1 mMのホルムアルデヒドが検出される。水俣病の原因となる有機水銀（メチル化水銀）は、肝臓で脱メチル化されてホルムアルデヒドを生成すると言われている[15]。当然、DNAもヒストン蛋白もアルデヒドによって修飾される。

脂肪酸由来短鎖アルデヒドはこれまで血中の測定が困難であったため、表舞台に登場する機会は少なかった[6]。脂質が豊富な脳組織や骨（特に骨髄）では脂肪酸由来アルデヒドが疾病形成に深く関わっている。脂肪酸由来アルデヒドは酸化ストレス下の生体内で生じ、様々な生体影響をもたらす。4-hydroxynonenal（4HNE）やmalondialdehyde（MDA）はアルコール性肝障害などの原因とされてきた[16, 17]。正常な肝細胞には脂肪的にわずかに分布する程度であるが、脂肪肝の状態になると、脂肪酸由来アルデヒドの増加リスクが高まる。NASHモデルマウスにオメガ3系不飽和脂肪酸であるeicosapentaenoic acid（EPA）を対照として投与した結果、肝組織中グルタチオン（glutathione; GSH）は不足または枯渇し、肝臓の線維化は増悪を示した[18]。この現象も過剰に生成した脂肪酸由来アルデヒドが原因であり、グリオキサラーゼ（glyoxalase: GLO）[19]による代謝の際に多くの補因子GSHが消費されたためと推測できる。

糖化ストレスの研究は、食品におけるメイラード反応に端を発している。糖化反応における初期反応は、開環型グルコースの露出したアルデヒド基（-CHO）と蛋白質／ペプチドのアミノ基（-NH_2）が反応してシフ塩基（化学式は想定されているが、一過性にできると考えられ、生成された物質は存在しない）を形成するカルボニル化反応から始まる。本論文では、アルデヒド基とアミノ基の反応をカルボニル化と呼び、その後の一連の反応を含めて糖化反応と呼ぶことにする。

腸内細菌叢を構成する相利共生菌が腸管内で生成する短鎖脂肪酸（酢酸、酪酸、プロピオン酸など）は脂肪肝の進展予防に貢献すると考えられる[20-23]。短鎖脂肪酸は *in vitro* 作用であるAGEs生成抑制作用（蛋白質のカルボニル化を抑制）を有するほか、*in vivo* 作用として特異的受容体を介した基礎代謝を高める作用がある[24]。但し短鎖脂肪酸の経口投与は無効と思われる[25]。

その他の経路として嗜好品由来アルデヒドがある。一つはアルコール摂取によるアセトアルデヒドであり、もう一つは喫煙由来アルデヒド（***Table 1***）である。一般的に喫煙は酸化ストレスが強い印象があるが、実際はタバコの煙は多種類のアルデヒドを含有しており、喫煙者のSAF（skin autofluorescence）値は高い（***Fig. 2***）[26]。米国では喫煙者の

Table 1. Toxic substances contained in cigarette smoke.

acetaldehyde	chromium	lead	N-nitrosomethylethylamine
acetamide	chrysene	MeA-a-C (2-amino-3-methyl-9H- pyridoindole)	N-nitrosomorpholine (NMOR)
acetone	cobalt	Mercury	N-nitrosonornicotine (NNN)
acrolein	coumarin	methyl ethyl ketone	N-nitrosopiperidine (NPIP)
acrylamide	cresol	5-methyl chrysene	N-nitrosopyrrolidine (NPYR)
acrylonitrile	croton aldehyde	4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)	N-nitrososarcosine (NSAR)
aflatoxin B	cyclopentapyrene	naphthalene	nornicotine
3-aminobiphenyl	dibenzanthracene	nickel	phenol
ammonia	dibenzopyrene	nicotine	PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo pyridine)
anabasine	2,6-dimethylaniline	nitric oxide (NOx)	polonium 210
o-anisidine	ethyl carbamate (urethane)	nitrobenzene	propionaldehyde
arsenicum	ethylbenzene	nitrogen monoxid	propylene oxide
A-α-C	ethylene oxide	nitromethane	pyridine
benzaldehyde	formaldehyde	2-nitropropa vinyl acetate	quinoline
benzanthracene	furan	N-nitrosoanatabine (NAB)	resorcinol
benzene	Glu-P-1 (2-amino-6-methyl pyrrolidone)	N-nitrosoanatabine (NAT)	selenium
benzofuran	Glu-P-2 (2-aminodipyrrolid)	N-nitrosodiethanolamine (NDELA)	styrene
benzopyrene	glycidaldehyde	N-nitrosodiethylamine 2	o-toluidine
beryllium	glycidol	N-nitrosodimethylamine (NDMA)	toluene
1,3-butadiene	hydrazine	N-nitrosomethylethylamine	Trp-P-1 (3-amino-1,4-dimethyl-5H- pyridoindole)
butylaldehyde	hydrogen cyanide	N-nitrosomorpholine (NMOR)	Trp-P-2 (1-methyl-3-amino-5H- pyridoindole)
cadmium	hydroquinone 3	N-nitrosonornicotine (NNN)	uranium 235
carbon monoxide	indenopyrene	N-nitrosopiperidine (NPIP)	uranium 238
catechol	IQ (2-amino-3-methylimidazole)	N-nitrosopyrrolidine (NPYR)	vinyl acetate
chlorinated dioxin/furan	isoprene	N-nitrososarcosine (NSAR)	vinyl chloride

Red letters indicate aldehydes. Not only carcinogens and oxidation-inducing substances, but also diverse aldehydes are contained.

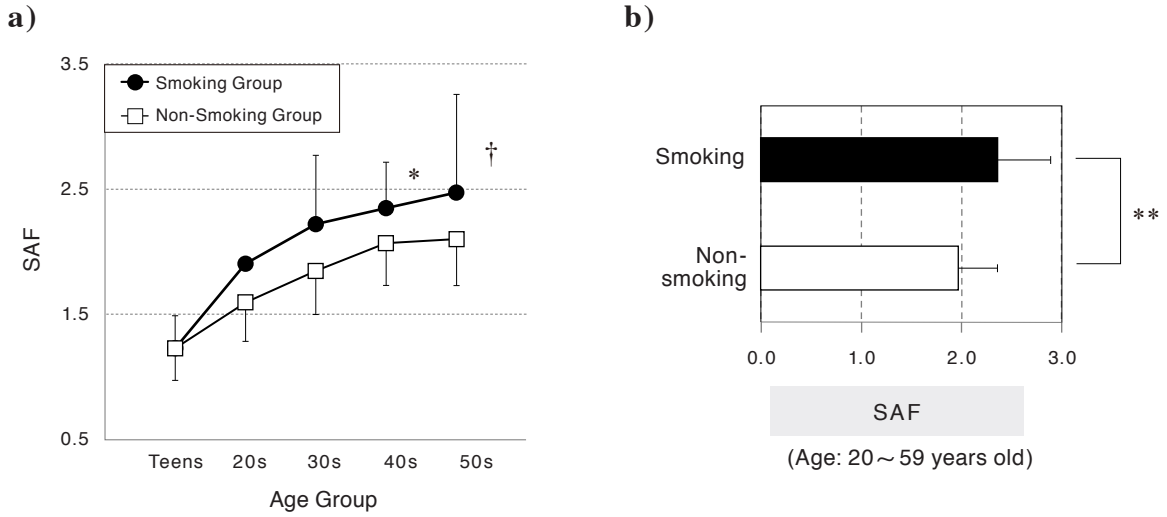

Fig. 2. **Aging trends in SAF and the impacts of smoking.**
The results are expressed as mean ± standard deviation, † $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$m Mann-Whitney's U-test. **a)** n = 244, **b)** Subject's ages between 10 to 59. Smoking group, n = 33; Non-smoking group, n = 177. SAF, skin autofluorescence measured by AGE Reader (DiagnOptics, The Netherlands). The figures are created based on reference 26).

Enzymes	Materials	Organs/Cells/Organelles
【Aldehyde metabolism】 **GAPDH** **ALDH** **Glyoxalase I &II** **【AGE breaking】** **OPH**	**【Aldehyde trapping】** **amino acids** **【Soluble RAGE】** **【AGE generation control】** **short chain fatty acids** **【AGE breaking】** **melatonin**	**【Phagocytosis】** **fibroblasts・glial cells** **reticuloendothelial cells** **macrophage・monocyte** **【Organelles】** **RAGE** **scavenger receptors for AGEs** **lysosome・proteasome** **【Excretion organs】** **liver (hepatocyte)** **kidney (podocyte)**

Fig. 3. **Anti-glycation system in human.**
Glycation products are processed through various cells/intracellular organelles, metabolized and subsequently eliminated by the liver and kidneys. Hepatocytes are rich in aldehyde metabolizing enzymes, *i.e.*, GAPDH, ALDH, and GLO, while the AGEs metabolizing enzyme OPH is expressed in skin and various tissues in addition to the liver. Various materials are involved in the anti-glycation system. Representative endogenous substances are shown in parentheses. Amino acids trap aldehyde, short-chain fatty acids derived from intestinal bacteria inhibit AGEs formation, and melatonin promotes AGE cleaving as well as its antioxidant effect. GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ALDH, Aldehyde dehydrogenase; GLO, glyoxalase; OPH, oxidized protein hydrolase; AGEs, advanced glycation endproducts; RAGE, receptor for AGEs.

死亡率が非喫煙者の2倍近く、脂肪肝患者でも同様に死亡率が増加する[27]。さらに喫煙により肝臓の線維化が顕著となり、肝臓の硬化がFibro Scan®で確認され[28]、悪性腫瘍の発生頻度が高まる[29]。こうして飲酒や喫煙習慣を有する者はさらに糖化ストレスが強まることになる。

2. 糖化ストレス防御機構としての肝臓

身体には抗糖化システムが備わっている（***Fig. 3***）。その中で肝臓は要としての役割を担う。肝細胞内にはアルデヒドに対する防御としてグリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: GAPDH）、グリオキサラーゼ（glyoxalase: GLO）、アルデヒド脱水素酵素（aldehyde dehydrogenase: ALDH）が豊富に存在する（***Fig. 4***）。

・GAPDH（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase）

GAPDHは肝細胞質内の蛋白質の20％近くを占め、生体内に最も多く酵素であり、糖化ストレス防御の要である[30,31]。

GAPDHは細胞質内で四量体を形成して解糖系酵素とし

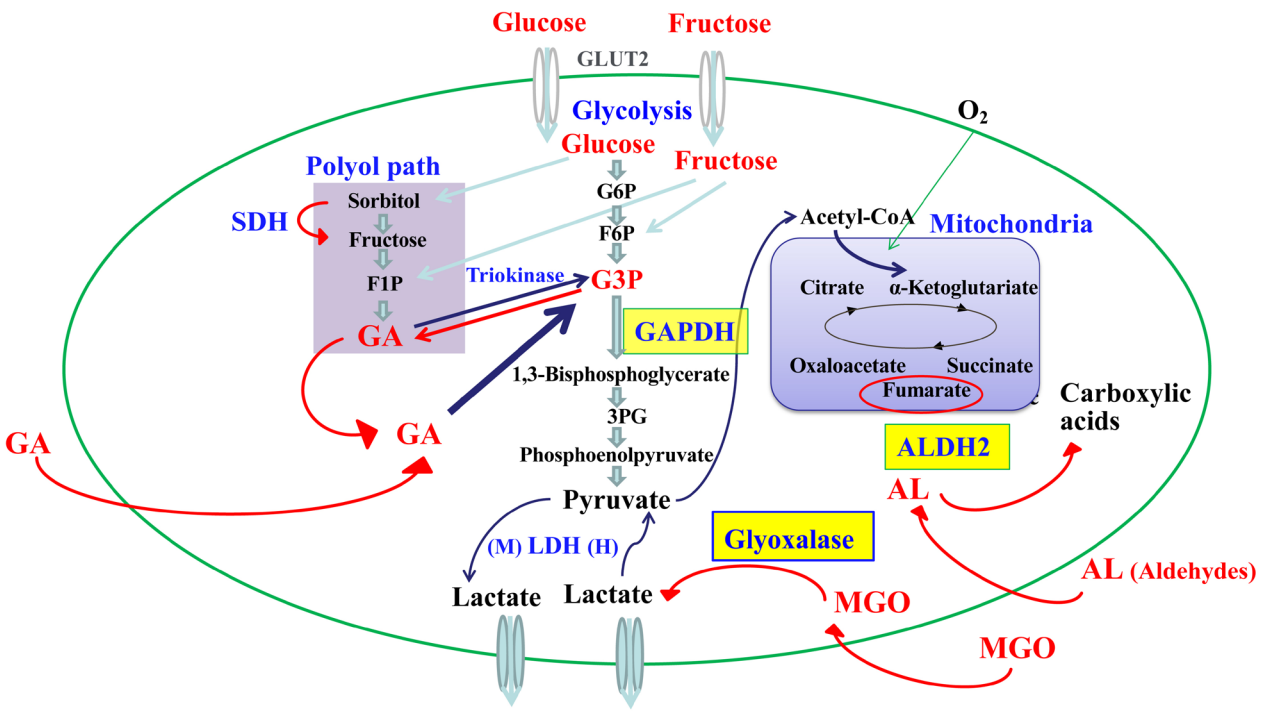

Fig. 4. **Glucose metabolic pathway and involvement of aldehydes in hepatocytes.**

In hepatocytes, aldehyde excess activates GAPDH, ALDH2, and glyoalase, while glucose excess activates the polyol pathway. When aldehydes enter the cell, they are promptly phosphorylated and retained inside the cell to be metabolized by enzymes. Much NAD+ and GSH are consumed as compensation for enzymatic activity. The influence extends to mitochondrial function. GLUT2, glucose transporter 2; AL, aldehydes; GA, glyceraldehyde; MGO, methylglyoxal; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ALDH, aldehyde dehydrogenase, SDH, sorbitol dehydrogenase; LDH, lactate dehydrogenase; G6P, glucose-6-phosphate; F1P, fructose 1-phosphate; F6P, fructose 6-phosphate; G3P, glyceraldehyde-3-phosphate; 3PG, 3-phosphoglycerate.

て機能する。GAPDHはGAの代謝に関わる。肝細胞内に移行あるいは生成したGAはトリオキナーゼ（triokinase）[32,33]により強力にリン酸化され、細胞膜を通過できないGAPに転換される。GAPは、補因子NAD＋（nicotinamide adenine dinucleotide）の補助を受けてGAPDHにより代謝され、3PG（3-phosphoglycerate）に転換される（***Fig. 5***）。肝細胞内ですべてのGAを代謝し、GAから身体を保護しようする使命を感じる。GAPDHは解糖系に位置するが、その量の多さから律速酵素ではない。GA大量生成という万が一の事態に備えているのであろう。

GAPDHに副業的作用を有する副業蛋白質（moonlighting protein）である。例えばGAPDHはDNAとの親和性が高く、一量体はウラシル-DNAグリコシラーゼとして機能することでDNA修復酵素として働く[34,35]。

糖化ストレスが強く、細胞内アルデヒドが過剰となり、細胞質内蛋白がアルデヒド修飾を受けて生成した異常蛋白が増えると、小胞体（ER）ストレスが増え、プロテアソームの処理能力も及ばない「細胞死の手前の状態」に至る。その状態になると、それまで守護神的役割を果たしてきたGAPDHが一転してアポトーシスを促進する挙動に出る[36]。GAPDHはミトコンドリア内に移行して、内膜の透過性亢進、膜貫通電位の喪失、アポトーシス誘導因子（apoptosis-inducing factor: AIF）の放出を惹起する[37,38]。これらの現象はアポトーシシの引き金と考えられている[30]。GAPDHが核移行して単量体や二量体を形成すると、アポトーシス促進蛋白質として機能する[39-41]。細胞質内GAPDHは、小胞体Ca^{2+}ポンプなどの内在性膜蛋白質に結合して、細胞質のCa^{2+}取り込みを増加させる[42,43]。その結果、細胞はアポトーシスに至る。

・アルデヒド脱水素酵素（ALDH）

ALDHスーパーファミリーはヒトでは19種のアイソザイムがあり、生体機能維持に重要な役割を果たしている[44,45]。その中でLDH2は、飲酒によって発生するアセトアルデヒドに対し高い親和性を持つ解毒酵素である[46]。肝臓や腎臓に多く発現しており、細胞内ではミトコンドリアマトリックスに発現する。ALDHはアセトアルデヒドをはじめ多種類のアルデヒドを分解する（***Fig. 5***）[47-50]。グリオキサール（glyoxal）やMGOなどのアルデヒド類もALDH2の基質である[51]。ALDH2は4HNEやMDAといった脂肪酸由来アルデヒドも代謝することがわかっている[52-54]。ALDHが酵素反応を発揮するためには、補因子NAD+が必須である。そのため糖化ストレスが強い状態、すなわちアルデヒド過剰産生の状態ではNAD+を大量に消費する。

GAPDH、ALDHによる代謝の過程でNAD+を必要とするため、アルデヒド過剰状態では、大量のNAD+消費を

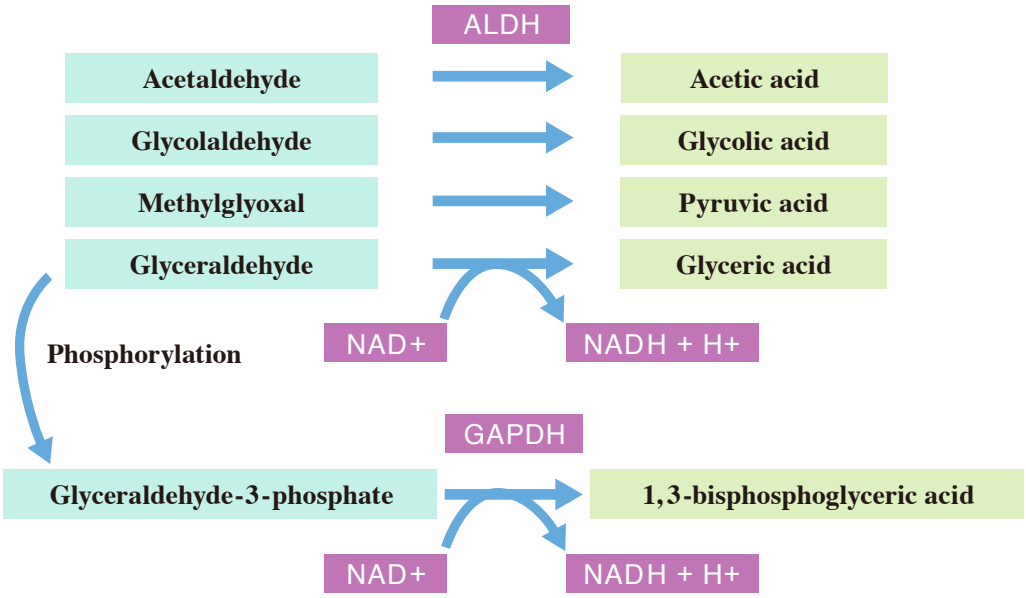

Fig. 5. **Aldehyde metabolizing enzyme that utilizes the cofactor NAD+.**
NAD+ is consumed as a cofactor, glycative stress with aldehyde excess condition leads to NAD+ deficiency. NAD+, nicotinamide adenine dinucleotide; NADH, nicotinamide adenine dinucleotide (reduced form).

消費し、NAD+不足や枯渇に陥る。アルコール飲用者（エタノールの過剰摂取）は、エタノールがアルコールデヒドロゲナーゼによってアセトアルデヒドに変換されるときにもNAD+が消費されるため、さらに注意が必要です。

細胞内に余分なグルコースが増えるとポリオール経路が活発化する。これは、解糖系経路だけでは処理しきれなくなったグルコースを、解糖系を通さずに、フルクトースなどに代謝する迂回経路である、グルコールはアルドース還元酵素（aldose reductase）によってソルビトールに転換され、さらにSDH（ソルビトール脱水素酵素）によってフルクトースに転換される。しかしSDHの媒介反応でNAD+が消費され、またフルクトースの一部はGAに転換されGA増加につながる。NAD+不足や枯渇を助長することになる。これは一種の悪循環である。

ミトコンドリアのTCAサイクルでは反応の3か所でNAD+を必要とするため、NAD+不足に陥るとサイクルが円滑に回らず、ATP産生が低下する（***Fig. 6***）。TCAサイクル機能障害によりNADH+やFADH2産生が減って電子伝達系への供給が減少すると、電子伝達系におけるATP産生も低下する。その結果、ミトコンドリアのエネルギー産生不足をきたし、肝細胞における種々の機能が低下する。

・グリオキサレース（GLO）

グリオキサラーゼはグリオキサラーゼI（GLO1）、グリオキサラーゼII（GLO2）があり、グリオキサラーゼシステムを作っている[55]。肝臓や腎臓をはじめ多くの細胞で発現している。MGOは、補因子として触媒的に働くGSHと結合したGLO1によって、Sd-ラクトイルグルタチオンに変換され、さらにGLO2を介しD-乳酸塩に加水分解される。D-乳酸は最終的にピルビン酸に代謝される。MGOは糖質および脂肪酸の双方に由来して生じるため、様々な糖化ストレス関連疾患の発症・進展に関与している。従って、MGOを代謝する酵素は糖化ストレス防御機能における重要な役割を果たしている。

MGO産生が増加し、GLOへの負荷が過剰になると、GSH不足状態に陥る。これは進行した脂肪肝や脂肪肝炎ではしばしば観察される所見である。反対にGSH枯渇状態は重篤な肝障害を惹起する。例として、アセトアミノフェンの過剰摂取による肝障害がある[56]。GSH不足状態になるとグリオキサラーゼが稼働せず、MGOが著明に増加することが原因である。

・酸化蛋白分解酵素（OPH）

OPHは、セリンプロテアーゼの一種であり、蛋白質のN末端アシル化アミノ酸を遊離するアシルペプチドヒドロラーゼ（Acylpeptide hydrolase：ACPH）と同一であり[57]、また、アシルアミノ酸遊離酵素（Acylamino-acid-releasing enzyme: AARE）とも呼ばれている[58]。OPHは、ヒト赤血球をはじめ、肝臓、腎臓、脳および心臓等の種々の組織に存在し、前記酸化蛋白質および前記糖化蛋白質を優先的に分解する[59]。

3. エピゲノム変化と糖化ストレス

エピゲノム変化とは、遺伝子のオン、オフを制御するためにDNAに起こる化学的な修飾が起こることです。制御された生理的な修飾を受けた場合、塩基配列は変わらずの細胞の個性として記憶され、遺伝として引き継がれる。生理的なDNAメチル化は、メチル基転移酵素（DNAメチ

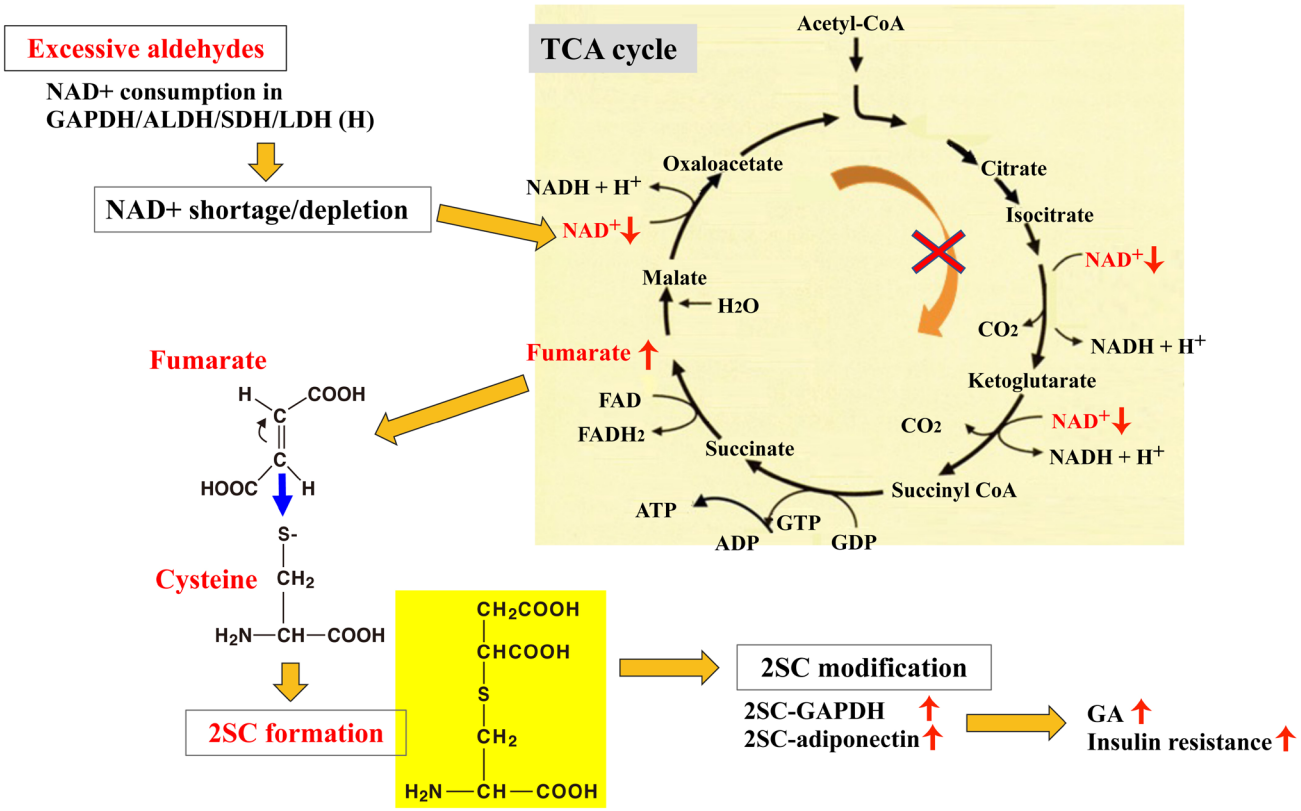

Fig. 6. **TCA cycle.**

Under the condition with NAD+ deficiency, the circuit does not run smoothly and ATP production decreases. Subsequently, fumaric acid increases. When fumaric acid binds to GAPDH (succinylation), its activity is attenuated. AcetylCoA. acetyl coenzyme A; NAD+, nicotinamide adenine dinucleotide; NADH, nicotinamide adenine dinucleotide (reduced form); FAD+, flavin adenine dinucleotideadenine dinucleotide; FADH2, flavin adenine dinucleotideadenine dinucleotide (reduced form); ATP, adenosine triphosphate; ADP, adenosine diphosphate; GTP, guanosine triphosphate; GDP, guanosine diphosphate; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ALDH, aldehyde dehydrogenase; SDH, sorbitol dehydrogenase; LDH (H), lactate dehydrogenase (H type); 2(SC), S-(2-succinyl)cysteine; GA, glyceraldehyde.

ルトランスフェラーゼ）によってCpG配列のシトシン塩基の5位の炭素にメチル基が付加されて、5-メチルシトシンに転換される。その結果、遺伝子の発現が影響を受け、発現抑制が生じることがある。脱メチル化酵素によってメチル基が遊離して、シトシンに戻ると、遺伝子発現が元に戻る。

メチル化年齢とは、DNAのメチル化の程度を評価して、細胞の老化度を評価する試みである。方法を概略すると、初めにバイサルファイト処理を行うことで、DNA中のメチル化されていないシトシンはウラシルに変換される[60,61]。一方、メチル化や他の修飾を受けているシトシンは変換されずに、シトシンのまま残る。従って、バイサルファイト処理後には、塩基配列が異なるDNAができる。DNAシークエンサーでその違いを解析することによって、メチル化の部位や程度（頻度）がわかる。ただし、メチル化年齢と呼称されるこの方法は、純粋にメチル化したシトシンを抽出しているわけではない。メチル化以外にも、ジメチル化、トリメチル化、カルボニル化、アルキル化といった様々な非生理的修飾が含まれている。

メチル化年齢測定によって、様々なことがわかった。老化とともにメチル化年齢が老化すること、糖尿病など糖化ストレスが強い状態ではメチル化年齢の老化が促進することが示された[62,63]。グルコースと脂質の反復スパイク的刺激がDNAメチル化を助長するという成績は大変興味深い[64]。アルデヒド過剰によって、非生理的にシトシンのカルボニル化が生じたと推測できる。このように糖化ストレスはエピゲノム変化に対して強い影響を及ぼすのである。

4. 脂肪肝から脂肪肝炎に至る過程

健常な肝細胞の細胞質にはグリコーゲン顆粒と脂肪滴が認められ、エネルギー貯蔵の役割を担う。脂肪滴は肝細胞や脂肪細胞だけでなく、全身の細胞に存在する細胞内小器官（オルガネラ）である。脂肪滴は過剰な脂質や毒性のある脂質を貯蔵し、細胞内の脂肪毒性を防ぐ働きがある[65]。健常者では脂肪滴は細胞質に限局しているが、脂肪肝炎では脂肪滴が核内にも認められる。その原因は不明である。

単純性脂肪肝（simple fatty liver）は肝細胞内に（大滴性）脂肪滴が貯留した状態である。脂肪滴は主にトリアシルグリセロール（トリアシルグリセロール）とコレステロールエステルの核（コア）を包む単層リン脂質（小胞体膜）として構成される[66]。単純性脂肪肝の予後は良好で、脂肪貯留

が顕著になった例でも、肝硬変や肝癌の発症はない。我々は脂肪肝炎に伴う脂肪滴にはAmadori-PEが豊富に含まれていると推測している。

脂肪肝に細胞変性、壊死、炎症、線維化が加わった病態が脂肪肝炎である（*Fig. 7*）。飲酒（エタノール摂取）があるとアルコール脱水素酵素とそれに続くALDHを介したエタノール／アセトアルデヒド代謝により、NAD+が消費され、還元型のニコチンアミドアデニン ジヌクレオチド（NADH）が生成される。NADH過剰状態は、肝細胞の脂肪酸合成を刺激し、NADHにより脂肪酸の酸化を阻止されるため脂肪肝が進行する[67]。NAD+は種々の酵素反応の補因子として作用し、それぞれが重要な反応である。従って、糖化ストレス（アルデヒド過剰）に起因するNAD+/NADHの均衡の乱れ（比率の低下）が、単純性脂肪肝として留まるか、脂肪肝炎への道を進み始めるかの境界であると推測している。この状態の脂肪肝に炎症性細胞（主に好中球、マクロファージ、クッパー細胞）の浸潤とともに炎症性変化加わった状態が脂肪肝炎（steatohepatitis）である。脂肪肝炎が進行すると線維化が進み肝硬変に至り、肝臓癌の発生母地となる。診断時点での脂肪肝炎は、線維化をほとんど認めない症例から肝硬変まで幅広く、予後は線維化の進行度で決まる。脂肪肝炎性肝硬変の肝細胞には脂肪滴がわずかあるいは消失していることが多い。

・炎症

脂肪肝炎に見られる炎症性細胞は好中球が優勢で、マクロファージ、クッパー細胞も認められる。これらの細胞の発現するRAGEは、AGEsと結合して炎症性サイトカイン（TNFα [tumor necrosis factor α] や IL6 [interleukin-6]）を分泌して、炎症を惹起する。その結果、組織障害が惹起される。

Leung Cらは糖化ストレスが脂肪肝炎を増悪させることを実験的に示している[68,69]。実験では、6週間メチオニンコリン欠乏（MCD）食をラットに与えた後、6週間高AGEsを含むMCD食を投与して、脂肪肝炎が進行することを示した[68]。高AGEs MCD食は、MCD単独食と比較して、肝臓AGEs含有量を増加させ、トリグリセリド、NADPH依存性ROS産生、HNE付加物、脂肪変性、炎症性サイトカインおよび線維症指標（α-SMA [α-smooth muscle actin]、CTGF [connective tissue growth factor]、COL1A、ピクロ

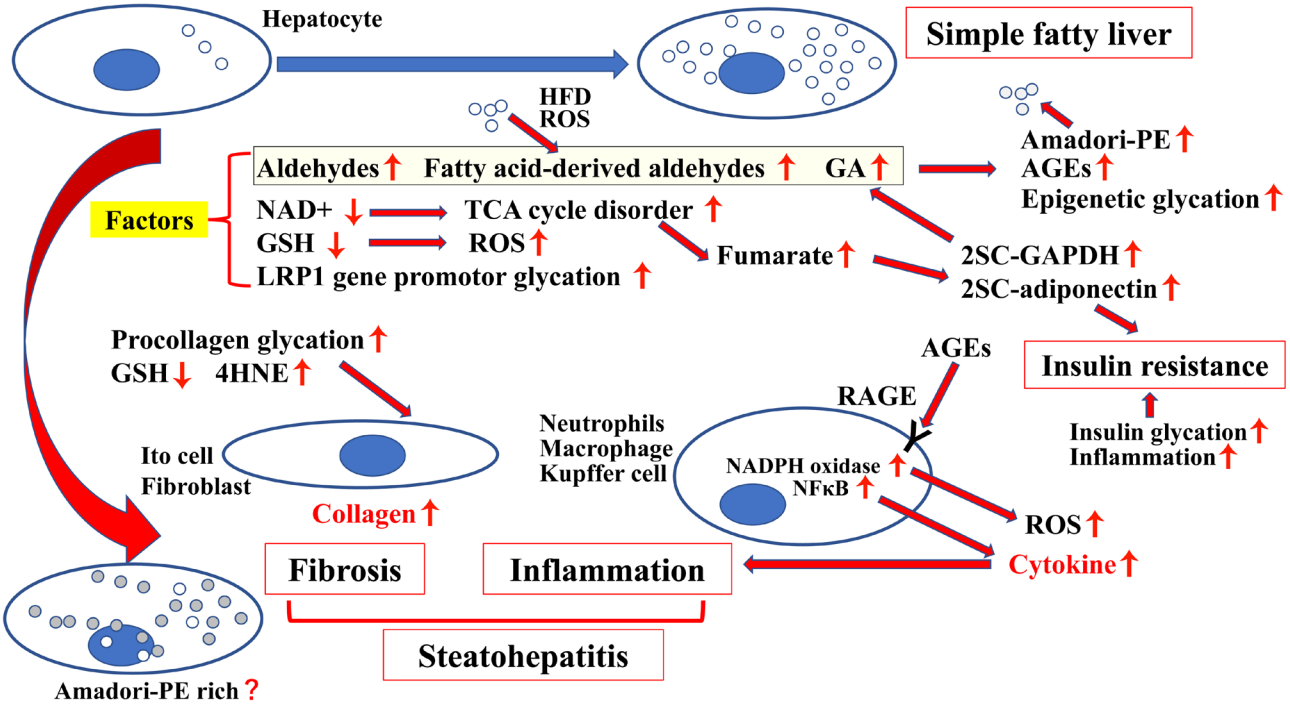

Fig. 7. **From fatty liver to steatohepatitis.**

Excess aldehydes cause proteins, lipids, and DNA to undergo glycation modifications. This places a strain on aldehyde metabolic enzymes, which consume and decrease NAD+ and GSH. Fibrosis progresses in fibroblasts and Ito cells. RAGE in immune response cells is stimulated, releasing inflammatory cytokines. Amadori-PE increases in lipid droplets. The combined effects of these changes lead to steatohepatitis. The involvement of LRP1 remains to be determined. HFD, high fat diet; ROS, reactive oxygen species; GA, glutaraldehyde; 4HNE, 4- hydroxynonenal; AGEs, advanced glycation endproducts; RAGE, receptor for AGEs; Amadori-PE, Amadori-glycated phosphatidylethanolamine; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; NAD+, nicotinamide adenine dinucleotide; GSH, glutathione; LRP1, low-density lipoprotein receptor related protein 1; 2(SC), S-(2-succinyl)cysteine; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form); NADH, nicotinamide adenine dinucleotide (reduced form); NFκB, nuclear factor κB; Ito cell, hepatic stellate cell.

シリウス [picrosirius]）を上昇させた。これらのデータは肝組織マクロファージやクッパー細胞上のRAGEにAGEsが結合して、炎症性サイトカイン分泌を介して、炎症が亢進した可能性を示唆している。

マウスに高脂肪、高果糖、高コレステロール（HFHC）食を33週間与えた結果、線維化を伴う脂肪肝炎が発症した[69]。脂肪酸由来アルデヒドである4HNE含有量の増加、線維化の指標であるα-SMAと1型コラーゲンの遺伝子発現が増加した。このモデルでは果糖の過剰摂取に由来する糖質由来アルデヒド生成が先行して連鎖反応的に起こり、身体の蛋白からAGEsが生成される。RAGEを介してROS産生が亢進し、さらに高脂肪食によって生じた脂肪酸が酸化されて、脂肪酸由来アルデヒドが加わり、肝臓組織でアルデヒド過剰状態になることが脂肪肝炎に至る悪性サイクルを形成している。この実験では、AGEsを多く含む食事だけでは、脂肪肝や脂肪性肝炎を引き起こさなかったことが記載されている[69]。

・線維化

アルコール性肝障害の成因として、アセトアルデヒドが肝線維化を助長することがこれまでも知られている。肝臓におけるコラーゲン産生細胞の代表は線維芽細胞の一種である伊東細胞（肝星細胞とも呼ばれる）である。伊東細胞はビタミンAを貯蔵し、肝臓内のディッセ腔と呼ばれる肝細胞と類洞内皮細胞の間隙に存在する。伊東細胞は、肝傷害時に活性化され、筋線維芽細胞様の形態を呈し、コラーゲン産生が亢進する。また肝硬変の成因にも深く関わる。AGEsが伊東細胞の活性化と増殖を促進し、ROSの産生につながる[68]。

未修飾のプロペプチドは、濃度依存的に伊東細胞によるコラーゲン合成を阻害する。しかし。プロコラーゲンのカルボキシル末端プロペプチドがアセトアルデヒドによって修飾されると、伊東細胞が正常プロコラーゲンと認識できなくなり、フィードバック制御からはずれ、コラーゲン産生が増加する。アルコール依存症者の肝臓ではプロコラーゲンと関連物質が形成され、線維化が進行する。伊東細胞内のGSH含有量が減少すると、1型コラーゲンmRNA発現量とコラーゲン蛋白質の産生が増加する[70]。アセトアルデヒド以外でも、4HNEなどの脂肪酸由来アルデヒドが肝線維芽細胞におけるコラーゲン生成を刺激し、線維化が促進される[67]。

・インスリン抵抗性

脂肪肝炎には必ずインスリン抵抗性が随伴している。我々がIRI（immuno-reactive insulin）として測定しているインスリン値を基準にした時のインスリン抵抗性は、アルデヒド過剰の関与が最も寄与度が高い。何故ならば、過剰アルデヒドは膵臓β細胞内でインスリン生合成の段階から衝撃を与えているからである。β細胞では、プレプロインスリン、プロインスリンを経て、インスリンが合成される（*Fig. 8*）[4]。

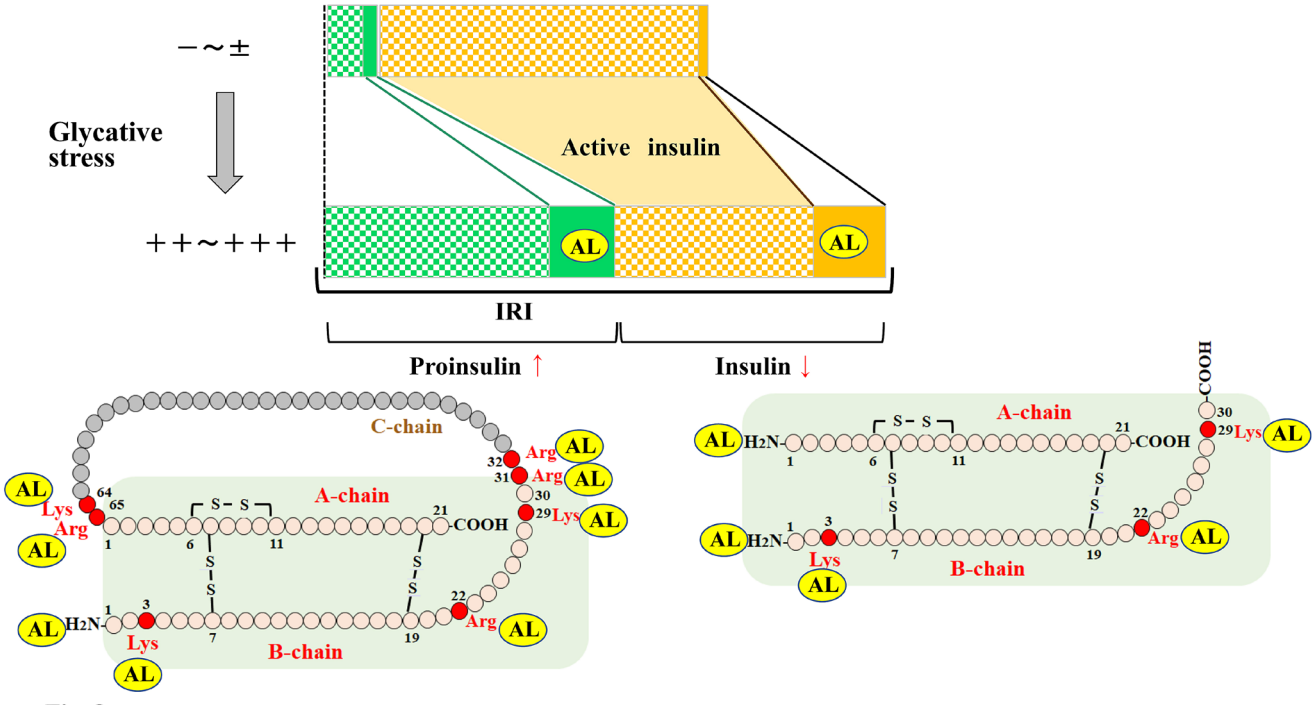

Fig. 8. **Glycative modification in the stage of insulin biosynthesis.**

The process of insulin biosynthesis in pancreatic β cells is affected by glycation stress (excess aldehydes). When the residues of Arg or Lys of the proinsulin B chain are glycated, it becomes protease resistant and the C chain cannot be cleaved. This increases the rate of proinsulin secretion and increases the IRI value, which cross-recognizes proinsulin and insulin. Glycated insulin has no insulin activity, so the rate of active insulin in the IRI decreases. AL, aldehyde; IRI. immuno-reactive insulin.

インスリンB鎖とCペプチドをつなぐArg 31-Arg 32、ならびにCペプチドとA鎖をつなぐLys 64-Arg 65が糖化修飾を受けると、C端側におけるプロプロテイン変換酵素（proprotein convertase）による切断が困難になる。そのため細部内プロインスリン／インスリンの比率が高まる。グルコース刺激に応答して、この比率を保ったままプロインスリンとインスリン分泌される。一方我々が測定するIRIはプロインスリンとインスリンの両者を含む値である。糖尿病患者ではインスリンの9％が糖化修飾を受けており[71]、糖化インスリンはもはやインスリン活性を持たない（*Fig. 8*）。アルデヒド過剰状態では、IRIに占める活性型無傷インスリンの比率は著明に低下する。これがインスリン抵抗性の実態である。

・ミトコンドリアの機能障害

アルデヒド過剰に対し肝細胞は防御の要となる。GAPDH、ALDH、グリオキサレースはフル活動を強いられNAD+とGSHを消費する。GSHが不足するとROS消去が手薄になり、肝細胞内脂肪滴に含まれる脂肪酸の酸化が進み、脂肪酸由来アルデヒドがさらに増えるという悪循環に陥る。一方、NAD+不足はミトコンドリアのTCA回路に影響を及ぼし、回路がうまく回らなくなる。その結果、ATP産生の低下に加えて、フマル酸量が増加する（*Fig. 6*）[72-74]。

フマル酸（fumaric acid）は蛋白／ペプチドのシステイン残基（-SH）と反応して、S-(2-succinyl)cysteine（2SC）を生成する。これも蛋白質翻訳後修飾の一形態である。ミトコンドリアで生じたフマル酸はGAPDHとも反応して2SC-GAPDHを生成、その結果GAPDHの酵素活性は低下する[72]。その結果、糖質由来アルデヒドとして生じるGA、解糖系で生じるGA、ポリオール経路で生じるGAに対する代謝能力が著しく低下する事態に陥る。

高脂肪食を与えて作製した肝障害モデルマウスでは、肝組織GAPDHの蛋白レベルの低下、血漿中のGA、MGO上昇を認めている[7,75]。機序として、高脂肪食に誘発された脂肪酸由来アルデヒド過剰に対応するためGAPDHやALDHがフル稼働となりNAD+を消費、TCAサイクル機能異常で生じたフマル酸により2SC-GAPDHが生じて酵素活性低下をきたし、血漿GA増加に至ったと推測している。GAの反応性は極めて高いため、周囲の単糖類や脂肪酸と反応して、連鎖反応的に種々の短鎖アルデヒドを生成する。糖質や脂肪酸からも生じるMGOの血漿中濃度は空腹時300～400 nmol/Lで、75 gグルコース経口摂取30分後に30～40％上昇する[8]。

・LRP1の非生理的エピゲノム変化

LDL受容体関連蛋白質1（LRP1）は、カイロミクロンおよびVLDLレムナントリポ蛋白質の血漿クリアランスにおいて重要な役割を担っており、その機能障害は、肥満、糖尿病、脂肪肝疾患と関連している[76,77]。LRP1は肝臓で多く発現しており、プロテイナーゼ阻害物質複合体、セルピン酵素複合体、キロミクロンレムナントや活性化凝固因子など種々の循環分子の除去などの、多くの生理学的プロセスで機能している。LRP1多型がトリグリセリドの上昇およびHDL値の低下との関連[78,79]、メタボリックシンドローム発症リスク[80]と関連することが指摘されている。LRP1については、*in vitro*細胞培養実験や組織特異的LRP1欠損の条件付きノックアウトマウスを用いた様々な*in vivo*研究がある。これらの研究成果より、ヒトにおける単純性脂肪肝から脂肪肝炎に至るメカニズムにLRP1機能不全が関与してる可能性は高い。

LRP1は非生理的エピゲノム変化を起こす。遺伝子のプロモーター（DNAの転写が開始される領域）の位置関係や環境によって非生理的エピゲノム変化の起こしやすさは異なる。LRP1遺伝子のプロモーターは特にエピゲノム変化を起こしやすいと予想され、Barić NはRAGEに比べてLRP1はエピゲノム因子に敏感であると指摘している[81]。メチル化部位が増えることにより、その遺伝子（位置12q13.3）は転写の低下とともに発現が抑制され、その多くの機能、例えば脳からの有害で有毒な高分子の排出に関連する機能、が障害される。LRP1遺伝子プロモーターのDNAメチル化がライフサイクル中に進行し続けることは、多くのプロセスを弱体化させる決定的な要因である。

ここで、「多くの論文でDNAメチル化と称してる現象にはカルボニル化、アルキル化など多彩な修飾が含まれていること」を思いだす必要がある。LRP1遺伝子プロモーターはCpGアイランドが豊富で含まれており、DNAメチル化感受性が高い。すなわち糖化ストレス（アルデヒド過剰）といったエピジェネティックイベントにより、非生理的なDNAのカルボニル化修飾が起こりやすい部位である。DNAメチル化だけでなくDNAカルボニル化修飾のレベル上昇に関連し、LRP1転写活性が低下し、CpG部位が完全にメチル化されると転写活性が完全に消失し、LRP1の発現が停止するのである[82]。

高脂肪食は、脂肪肝炎だけでなく、肝硬変や肝癌の主な危険因子である[83]。肝細胞におけるLRP1の発現は、高脂肪食起因性脂肪肝や脂肪肝炎に対する防御機構として重要ある[84-86]。反対に、LRP1の発現が低下すれば、脂肪肝炎のリスクは高まる。LRP1レベルの低下は、肝細胞癌の予後不良とも関連している[87]。肝細胞におけるLRP1不活性化は、HF食誘発性肥満、耐糖能障害、インスリン抵抗性、および脂肪肝を悪化させる[84]。肝臓LRP1不活性化は、食事性コレステロールと相乗効果を及ぼし、肝疾患から脂肪性肝炎への進行を加速させる[85,86]。LPR1の高度な発現低下は肝細胞の変性を誘発する[88]。

LRP1不活性化の原因については、高脂肪食に起因する脂肪酸由来アルデヒドがLRP1遺伝子プロモーター領域のシトシンのカルボニル化修飾を惹起して、LRP1発現が低下したという機序が想定できる。

エピゲノム変化はヒストンにも生じる[11]。特にヒストン蛋白のリジン残基、アルギニン残基のアセチル化／脱アセチル化が生理的な修飾部位である。ヒストンアセチル基転移酵素（histone acetyltransferase: HAT）によりアセチル化

される転写は活性化され、ヒストン脱アセチル化酵素により脱アセチル化されると転写に抑制がかかる。一方でヒストン蛋白のこの部位は、メチル化、リン酸化、ユビキチン化、シトルリン化、クロトニル化修飾を受ける。非生理的には、アルデヒドによってリン酸化や糖化修飾（カルボニル化修飾）が起こる。

ヒストン脱アセチル化酵素（histone deacetylase: HDAC）と転写因子SREBP（sterol regulatory element-binding protein）は肝臓の脂質代謝の恒常性を維持する上で重要な役割を果たす。HDAC3はエストロゲン関連受容体αを活性化し、脂質トランスポーター遺伝子Cd36の転写を誘導し、脂質吸収と肥満を促進する[89]。一方、HDAC3欠損マウスでは、脂肪生成の亢進し、脂肪酸由来アルデヒド結合物質の蓄積とATP産生低下がみられ、肝細胞障害により致死的な表現型を示す[90]。従って、ヒストンのアセチル化／脱アセチル化は厳格に統御されなくてはならない。ヒストン蛋白が過剰のアルデヒトにより修飾を受けると、HDACが作用できずに、脂質代謝異常と肝細胞障害を起こすと予想される。

高脂肪高果糖食を与えられたラットの脂肪肝炎ではHDAC3の発現増加がみられる[91]。この現象は脂質由来および糖質由来アルデヒドの過剰が原因で、ヒストンの糖化修飾が増加、転写活性が亢進したため、応答反応としてHDAC3の発現が増加したと考えられる。

6. 酸化ストレスの関与

細胞レベルでは、AGEsはRAGEを介して、NADPHオキシダーゼを活性化してROSを誘発することが[92]、NASH発症の重要なメカニズムとなっている[93]。AGEsが伊東細胞の活性化しROS産生を増加させる[68]。クッパー細胞もAGEsを添加するとRAGEを介して、ROS産生を増加させる[69]。ROSによる過酸化脂質の生成や酸化傷害もある程度は肝障害に影響するが、通常レベルでの糖化ストレス状態では、脂肪酸の酸化による脂肪酸由来アルデヒド生成の衝撃はさらに大きいと考えらる。

しかし、脂肪肝とは無縁と考えられていたアスリートに脂肪肝炎が発症する場合がある。その場合は運動負荷が極めて大きく、酸化傷害が顕著である。一般健常者と運動負荷の極めて強いアスリート集団（ある大学の体育会駅伝部学生部員）を対象とした臨床試験の成績を示す（***Table 2***、未発表データ）。8-OHdG（8-hydroxy-deoxyguanosine）はDNA（構成塩基グアニン）の酸化損傷、イソプラスタンは脂肪酸の酸化損傷の指標とされている。アスリート集団ではこれらの指標が一般健常者に比べ8-OHdGが10～20倍、イソプランスタンが20～40倍高かった。アスリート集団の検査日は合宿初日であったが、4週間後もこの値はほぼ変わらなかった。アスリート集団は極めて酸化ストレス損傷の度合いが高く、ROSやフリーラジカルが過剰状態にあることがわかる。

アスリートの肝細胞にも、貯蔵エネルギーを確保するために脂肪滴が認められる。細胞内グリコーゲン枯渇後のエネルギー源として重要である。しかし、強度な運動負荷によりROS産生が過剰になると、肝細胞内脂肪滴から脂肪酸由来アルデヒド産生が著明に更新する。MGOの増加によりGLOへの負荷が増しGSHが大量に消費され、抗酸化防御能は低下する。蛋白修飾の結果生成された大量AGEsが、マクロファージやクッパー細胞のRAGEを刺激し炎症性サイトカインを放出、炎症が惹起される。並行して、糖化修飾されたコラーゲンにより刺激を受けた線維芽細胞や肝傷害刺激によって活性化して筋線維芽細胞様に変化した伊東細胞からコラーゲン産生が増え、線維化が進む。脂肪肝に炎症と線維化が合わさって脂肪肝炎に至ると考えられる。

さらにアスリート特有の事情が加わる。アスリートは強い運動強度がかかり、筋肉によりグルコースの使用が増加し、肝臓において糖新生系が亢進することが知られている。例えば、アラニンはアラニンアミノトランスフェラーゼによってピルビン酸に変換され、グルコース6リン酸（glucose 6-phosphate: G6P）が生成される。しかし、2024年の抗加齢医学総会で「マウスにおいて急激な糖新生は肝臓での短

Table 2. Urinary oxidative stress indicators: Comparison between healthy subjects and hard-training athletes.

Subjcets		Healthy subjects	Athletes with hard training
Number		23	19
Sex		M:11, F:12	M:19
Age (year)	(year)	44.7 ± 7.9	19.8 ± 71.0
BMI		23.0 ± 2.1	21.8 ± 7.0
8-OHdG generation rate	(ng/kg/hr)	11.3 ± 6.5	119.0 ± 54.0
15-Isoprostane generation rate	(ng/kg/hr)	4.3 ± 2.8	85.6 ± 56.2
8-OHdG/Cre	(ng/mg Cre)	11.0 ± 3.8	206.6 ± 57.8
15-Isoprostane/Cre	(ng/mg Cre)	4.1 ± 1.9	1675.9 ± 1246.9

Results are expressed as mean ± standard deviation. Note that oxidative stress markers are extremely high in the athletes (members of university Ekiden Club) in season. Ekiden, long distance relay. Unpublished data.

鎖アルデヒドであるMGOを増加させる」ことを発表した[94]。ヒトでの検証が今後必要であるが、糖新生による短鎖アルデヒドの生成は今後注目する必要がある。

もう一つの事情は運動後の飲料である。いわゆるスポーツ飲料にはミネラルに加えて、エネルギー源としてグルコース単独ではなく異性化糖（フルクトース70％以上）が使用されている場合が多い。大量に飲用するとフルクトースの過剰摂取につながる。フルクトースが解糖系に入るためには、フルクトキナーゼにより生成するフルクトース1リン酸（fructose-1-phosphate: F1P）、またはヘキソキナーゼにより生成するフルクト6リン酸（fructose-6-phosphate: F6P）を経る必要があるが、F1Pからは短鎖アルデヒドであるGAが生成される。実際に、マウスへのフルクトース投与で、小腸においてかなりの量のGAが生成することが前述の学会で報告した[94]。肝臓において短鎖アルデヒドが増加し、アルデヒドと反応しアルデヒドの解毒に関わるシステインが枯渇すると肝炎が生じることが報告されている[6]。

上記の習慣を組み合わさると、アルデヒド負荷が強まり、アスリートの脂肪肝炎のリスクがさらに高まる。

おわりに

脂肪肝炎の予防と治療

治療法についてはさまざまな議論があるが、脂肪肝炎を抑制する治療法は確立されていない。脂肪肝と言われたら放置せず、進行を予防する必要がある。基本的な方法は食事療法と運動療法である。背景に肥満、糖尿病、脂質異常症、高血圧症がある場合は、厳格な管理を行うべきである。

脂肪肝炎の発症と進行には糖化ストレス（アルデヒド過剰状態）が大きく関与している。脂肪肝と脂肪肝炎がどの時点で別れるかは不明である。アルデヒド過剰によるNAD+の不足や枯渇の有無とTCA回路の異常の有無が決定要因であると推測している。特にTCA回路の異常はGAPDHのフマル酸修飾を惹起し、さらなるアルデヒド増加をきたす悪循環につながる。もう一つの鍵はエピゲノム変化への糖化修飾であろう。我々はLTP1遺伝子に着目しているが、この点については今後の課題である。

糖化ストレス対策（糖化ケア）によってアルデヒドの過剰状態を回避することが重要である。第一段階は、炭水化物、脂肪酸、嗜好品であるアルコールや喫煙に由来するアルデヒド生成を抑制することでる。第二段階は、体内物質（蛋白質、脂質、DNA）の糖化修飾を阻害すること、第三段階は、糖化産物（AGEs）の分解・排泄を促進することである。糖化ストレスが脂肪肝から脂肪肝炎への進展過程に及ぼす影響について十分に理解し、糖化ケアを実践することが重要である。

謝辞

本論文の骨子は2024年第28回糖化ストレス研究会（東京）にて発表した。

研究助成

本研究は科研費（JSPS Kakenhi 23K10882）より研究助成を受けた。

利益相反申告

本研究に関して該当事項はない。

参考文献

1) Argo CK, Caldwell SH. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2009; 13: 511-531.
2) Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: A weighty connection. *Hepatology*. 2010; 51: 1820-1832.
3) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 1. What is glycative stress? *Glycative Stress Res*. 2016; 3: 152-155.
4) Yonei Y, Yagi M, Sato K, et al Glycative stress: Molecular impacts and defense mechanisms. *Glycative Stress Res*. 2023; 10: 145-158.
5) Sookwong P, Nakagawa K, Fujita I, et al. Amadori-glycated phosphatidylethanolamine, a potential marker for hyperglycemia, in streptozotocin-induced diabetic rats. *Lipids*. 2011; 46: 943-952.
6) Zheng Y, Martin-Morales A, Wang J, et al. Phenethylamine in chlorella alleviates high-fat diet-induced mouse liver damage by regulating generation of methylglyoxal. *NPJ Sci Food*. 2021; 5: 22.
7) Sato K, Zheng Y, Martin-Morales A, et al. Generation of short chain aldehydes and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). *Glycative Stress Res*, 2022; 9: 129-134.
8) Maessen DE, Hanssen NM, Scheijen JL, et al. Post-glucose load plasma α-dicarbonyl concentrations are increased in individuals with Impaired glucose metabolism and type 2 diabetes: The CODAM study. *Diabetes Care*. 2015; 38: 913-920.
9) Takeuchi M, Sakasai-Sakai A, Takata T, et al. Intracellular toxic AGEs (TAGE) triggers numerous types of cell damage. *Biomolecules*. 2021; 11: 387.

10) Takeuchi M, Sakasai-Sakai A, Takata T, et al. Effects of toxic AGEs (TAGE) on human health. *Cells*, 2022; 11: 2178.
11) Tsukada Y, Fang J, Erdjument-Bromage H, et al. Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins. *Nature*. 2006; 439(7078): 811-816.
12) Kalász H. Biological role of formaldehyde, and cycles related to methylation, demethylation, and formaldehyde production. *Mini Rev Med Chem*. 2003; 3: 175-192.
13) He R, Lu J, Miao J. Formaldehyde stress. *Sci China Life Sci*. 2010; 53: 1399-1404.
14) Zhang Y, Yang Y, He X, et al. The cellular function and molecular mechanism of formaldehyde in cardiovascular disease and heart development. *J Cell Mol Med*. 2021; 25: 5358-5371.
15) Uchikawa T, Kanno T, Maruyama I, et al. Demethylation of methylmercury and the enhanced production of formaldehyde in mouse liver. *J Toxicol Sci*. 2016; 41: 479-487.
16) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991; 11: 81-128.
17) Dey A, Cederbaum AI. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology*. 2006; 43(2 Suppl 1): S63-S74.
18) Fraser DA, Wang X, Lund J, et al. A structurally engineered fatty acid, icosabutate, suppresses liver inflammation and fibrosis in NASH. *J Hepato*l. 2022; 76: 800-811.
19) Inagi R. Glycative stress and glyoxalase in kidney disease and aging. *Biochem Soc Trans*. 2014; 42: 457-460.
20) Hong Y, Sheng L, Zhong J, et al. Desulfovibrio vulgaris, a potent acetic acid-producing bacterium, attenuates nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Gut Microbes*. 2021; 13: 1-20.
21) Ramos Meyers G, Samouda H, Bohn T. Short chain fatty acid metabolism in relation to gut microbiota and genetic variability. *Nutrients*. 2022; 14: 5361.
22) Leung C, Rivera L, Furness JB, et al. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016; 13: 412-425.
23) Coppola S, Avagliano C, Calignano A, et al. The protective role of butyrate against obesity and obesity-related diseases. *Molecules*. 2021; 26: 682.
24) Shimizu H, Ohue-Kitano R, Kimura I. Regulation of host energy metabolism by gut microbiota-derived short-chain fatty acids. *Glycative Stress Res*. 2019; 6: 181-191.
25) Shashni B, Tajika Y, Ikeda Y, et al. Self-assembling polymer-based short chain fatty acid prodrugs ameliorate non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis. Biomaterials. 2023; 295: 122047.
26) Nomoto K, Yagi M, Arita S, et al. Skin accumulation of advanced glycation end products and lifestyle behaviors in Japanese. *Anti-Aging Medicine*. 2012; 9: 165-173.
27) Wijarnpreecha K, Scribani M, Kim D, et al. The interaction of nonalcoholic fatty liver disease and smoking on mortality among adults in the United States. *Liver Int*. 2019; 39: 1202-1206.
28) Ou H, Fu Y, Liao W, et al. Association between smoking and liver fibrosis among patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2019; 2019: 6028952.
29) Mumtaz H, Hameed M, Sangah AB, et al. Association between smoking and non-alcoholic fatty liver disease in Southeast Asia. *Front Public Health*. 2022; 10: 1008878.
30) Butterfield DA, Hardas SS, Lange ML. Oxidatively modified glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and Alzheimer's disease: Many pathways to neurodegeneration. *J Alzheimers Dis*. 2010; 20: 369-393.
31) 原田直樹, 三谷塁一, 山地亮一. 多機能性を持つMoonlighting Proteins. *生化学*. 2015; 87: 279-285.
32) Veneziale CM. Regulation of d-triokinase and NAD-linked glycerol-dehydrogenase activities in rat liver. *European Journal of Biochemistry*. 1972; 31: 59-62.
33) Feraudi M, Kohlmeier M, Glaser W, et al. Mechanism of action of D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Acta Biochim Biophys Acad Sci Hung*. 1977; 12: 317-327.
34) Meyer-Siegler K, Mauro DJ, Seal G, et al. A human nuclear uracil DNA glycosylase is the 37-kDa subunit of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 8460-8464.
35) Sirover MA. New insights into an old protein: The functional diversity of mammalian glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1432: 159-184.
36) Chuang DM, Hough C, Senatorov VV. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, apoptosis, and neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005; 45: 269-290.
37) Tarze A, Deniaud A, Le Bras M, et al. GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization. *Oncogene*. 2007; 26: 2606-2620.
38) Ryzlak MT, Pietruszko R. Heterogeneity of glyceraldehyde -3-phosphate dehydrogenase from human brain. *Biochim Biophys Acta*. 1988; 954: 309-324.
39) Ishitani R, Chuang DM. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase antisense oligodeoxynucleotides protect against cytosine arabinonucleoside-induced apoptosis in cultured cerebellar neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93: 9937-9941.
40) Ishitani R, Kimura M, Sunaga K, et al. An antisense oligodeoxynucleotide to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase blocks age-induced apoptosis of mature cerebrocortical neurons in culture. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996; 278: 447-454.
41) Sawa A, Khan AA, Hester LD, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: Nuclear translocation participates in neuronal and non-neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94: 11669-11674.
42) Patterson RL, van Rossum DB, Kaplin AI, et al. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor/GAPDH complex augments Ca^{2+} release via locally derived NADH. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 1357-1359.
43) Xu KY, Becker LC. Ultrastructural localization of glycolytic enzymes on sarcoplasmic reticulum vesicles. *J Histochem Cytochem*. 1998; 46: 419-427.
44) Vasiliou V, Bairoch A, Tipton KF, et al. Eukaryotic aldehyde dehydrogenase (ALDH) genes: Human polymor phisms, and recommended nomenclature based on divergent evolution and chromosomal mapping. *Pharmacogenetics*. 1999; 9: 421-434.
45) Jackson B, Brocker C, Thompson DC, et al. Update on the aldehyde dehydrogenase gene (ALDH) superfamily. *Hum Genomics*. 2011; 5: 283-303.
46) Yoshida A, Hsu LC, Yasunami M. Genetics of human alcohol-metabolizing enzymes. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 1991; 40: 255-287.

47) Wang MF, Han CL, Yin SJ. Substrate specificity of human and yeast aldehyde dehydrogenases. *Chem Biol Interact*. 2009; 178: 36-39.
48) Wang RS, Nakajima T, Kawamoto T, et al. Effects of aldehyde dehydrogenase-2 genetic polymorphisms on metabolism of structurally different aldehydes in human liver. *Drug Metab Dispos*. 2002; 30: 69-73.
49) Lassen N, Estey T, Tanguay RL, et al. Molecular cloning, baculovirus expression, and tissue distribution of the zebrafish aldehyde dehydrogenase 2. *Drug Metab Dispos*. 2005; 33: 649-656.
50) Kitagawa K, Kawamoto T, Kunugita N, et al. Aldehyde dehydrogenase (ALDH) 2 associates with oxidation of methoxyacetaldehyde; *In vitro* analysis with liver subcellular fraction derived from human and Aldh2 gene targeting mouse. *FEBS Lett*. 2000; 476: 306-311.
51) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991; 11: 81-128.
52) Zhang H, Gong DX, Zhang YJ, et al. Effect of mitochondrial aldehyde dehydrogenase-2 genotype on cardioprotection in patients with congenital heart disease. *Eur Heart J*. 2012; 33: 1606-1614.
53) Markesbery WR, Lovell MA. Four-hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, is increased in the brain in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 1998; 19: 33-36.
54) Kwon HJ, Won YS, Park O, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 deficiency ameliorates alcoholic fatty liver but worsens liver inflammation and fibrosis in mice. *Hepatology*. 2014; 60: 146-157.
55) He Y, Zhou C, Huang M, et al. Glyoxalase system: A systematic review of its biological activity, related-diseases, screening methods and small molecule regulators. *Biomed Pharmacother*. 2020; 131: 110663.
56) Yamada N, Karasawa T, Kimura H, et al. Ferroptosis driven by radical oxidation of n-6 polyunsaturated fatty acids mediates acetaminophen-induced acute liver failure. *Cell Death Dis*. 2020; 11: 144.
57) Fujino T, Tada T, Beppu M, et al. Purification and characterization of a serine protease in erythrocyte cytosol that is adherent to oxidized membranes and preferentially degrades proteins modified by oxidation and glycation. *J Biochem*. 1998; 124: 1077-1085.
58) Yagi M, Ishigami M, Mori R, et al. Reduction effect of oxidized protein hydrolase (OPH) on advanced glycation end products and OPH-like activity in human stratum corneum. *Glycative Stress Res*. 2017; 4: 184-191.
59) 後藤佐多良, 高橋良哉. 環境因子とタンパク質の変化. *実験医学*. 1998; 16: 2324-2331.
60) Krueger F, Kreck B, Franke A, et al. DNA methylome analysis using short bisulfite sequencing data. *Nat Methods*. 2012; 9: 145-151.
61) Emantoko Dwi Putra S, Martriano Humardani F, Antonius Y, et al. Epigenetics of diabetes: A bioinformatic approach. *Clin Chim Acta*. 2024; 557: 117856.
62) Kho M, Wang YZ, Chaar D, et al. Accelerated DNA methylation age and medication use among African Americans. *Aging (Albany NY)*. 2021; 13: 14604-14629.
63) Vetter VM, Spieker J, Sommerer Y, et al. DNA methylation age acceleration is associated with risk of diabetes complications. *Commun Med (Lond)*. 2023; 3: 21.
64) Horitani K, Iwasaki M, Kishimoto H, et al. Repetitive spikes of glucose and lipid induce senescence-like phenotypes of bone marrow stem cells through H3K27me3 demethylase-mediated epigenetic regulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2021; 321: H920-H932.
65) Imai N, Ohsaki Y, Cheng J, et al. Distinct features of two lipid droplets types in cell nuclei from patients with liver diseases. *Sci Rep*. 2023; 13: 6851.
66) Penno A, Hackenbroich G, Thiele, C. Phospholipids and lipid droplets. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1831, 589-594.
67) Lieber CS. Alcoholic fatty liver: Its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol*. 2004; 34: 9-19.
68) Leung C, Herath CB, Jia Z, et al. Dietary glycotoxins exacerbate progression of experimental fatty liver disease. *J Hepatol*. 2014; 60: 832-838.
69) Leung C, Herath CB, Jia Z, et al. Dietary advanced glycation end-products aggravate non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2016; 22: 8026-8040.
70) Liu RM, Liu Y, Forman HJ, et al. Glutathione regulates transforming growth factor-beta-stimulated collagen production in fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004; 286: L121-L128.
71) Hunter SJ, Boyd AC, O'Harte FP, et al. Demonstration of glycated insulin in human diabetic plasma and decreased biological activity assessed by euglycemic-hyperinsulinemic clamp technique in humans. *Diabetes*. 2003; 52: 492-498.
72) Alderson NL, Wang Y, Blatnik M, et al. S-(2-Succinyl) cysteine: A novel chemical modification of tissue proteins by a Krebs cycle intermediate. *Arch Biochem Biophys*. 2006; 450: 1-8.
73) Nagai R, Brock JW, Blatnik M, et al. Succination of protein thiols during adipocyte maturation: A biomarker of mitochondrial stress. *J Biol Chem*. 2007; 282: 34219-34228.
74) Frizzell N, Rajesh M, Jepson MJ, et al. Succination of thiol groups in adipose tissue proteins in diabetes: Succination inhibits polymerization and secretion of adiponectin. *J Biol Chem*. 2009; 284: 25772-25781.
75) Martin-Morales A, Arakawa T, Sato M, et al. Development of a method for quantitation of glyceraldehyde in various body compartments of rodents and humans. *J Agric Food Chem*. 2021; 69: 13246-13254.
76) van de Sluis B, Wijers M, Herz J. News on the molecular regulation and function of hepatic low density lipoprotein receptor and LDLR-related protein 1. *Curr Opin Lipidol*. 2017; 28: 241-247.
77) Jaeschke A, Haller A, Cash JG, et al. Mutation in the distal NPxY motif of LRP1 alleviates dietary cholesterol-induced dyslipidemia and tissue inflammation. *J Lipid Res*. 2021; 62: 100012.
78) Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010; 466: 707-713.
79) Qi Q, Liang L, Doria A, et al. Genetic predisposition to dyslipidemia and Type 2 diabetes risk in two prospective cohorts. *Diabetes*. 2012; 61: 745-752.
80) Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Solivera J, et al. Top single nucleotide polymorphisms affecting carbohydrate metabolism in metabolic syndrome: From the LIPGENE study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 99: E384-E389.

81) Barić N. The role of the low-density lipoprotein receptor related protein 1 (LRP1) and the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in the ageing process. *Glycative Stress Res*. 2024; 11: 7-20.
82) Xing P, Liao Z, Ren Z, et al. Roles of low-density lipoprotein receptor-related protein 1 in tumors. *Chin J Cancer*. 2016; 35: 6.
83) Ioannou GN, Morrow OB, Connole M, et al. Association between dietary nutrient composition and the incidence of cirrhosis or liver cancer in the United States population. *Hepatology*. 2009; 50: 175-184.
84) Ding Y, Xian X, Holland WL, et al. Low-density lipoprotein receptor related protein-1 protects against hepatic insulin resistance and hepatic steatosis. *EBioMedicine*. 2016; 7: 135-145.
85) Hamlin AN, Basford JE, Jaeschke A, et al. LRP1 protein deficiency exacerbates palmitate-induced steatosis and toxicity in hepatocytes. *J Biol Chem*. 2016; 291: 16610-16619.
86) Hamlin AN, Chinnarasu S, Ding Y, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein-1 dysfunction synergizes with dietary cholesterol to accelerate steatohepatitis progression. *J Biol Chem*. 2018; 293: 9674-9684.
87) Huang XY, Shi GM, Devbhandari RP, et al. Low level of low-density lipoprotein receptor related protein 1 predicts an unfavorable prognosis of hepatocellular carcinoma after curative resection. *PLoS One*. 2012; 7.
88) Herz J, Clouthier DE, Hammer RE. LDL receptor related protein internalizes and degrades uPA-PAI-1 complexes and is essential for embryo implantation. *Cell*. 1992; 71: 411-421.
89) Kuang Z, Wang Y, Li Y, et al. The intestinal microbiota programs diurnal rhythms in host metabolism through histone deacetylase 3. *Science*. 2019; 365: 1428-1434.
90) Papazyan R, Sun Z, Kim YH, et al. Physiological suppression of lipotoxic liver damage by complementary actions of HDAC3 and SCAP/SREBP. *Cell Metab*. 2016; 24; 863-874.
91) Witayavanitkul N, Werawatganon D, Chayanupatkul M, et al. Genistein and exercise treatment reduced NASH related HDAC3, IL-13 and MMP-12 expressions in ovariectomized rats fed with high fat high fructose diet. *Tradit Complement Med*. 2021; 11: 503-512.
92) Basta G, Schmidt AM, De Caterina R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: Implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. *Cardiovasc Res*. 2004; 63: 582-592.
93) Santos JC, Valentim IB, de Araújo OR, et al. Development of nonalcoholic hepatopathy: Contributions of oxidative stress and advanced glycation end products. *Int J Mol Sci*. 2013; 14: 19846-19866.
94) 佐藤健司, 氏原実優. フルクトースの経口投与で生じる短鎖アルデヒド. 第24回日本抗加齢医学会総会 (2024年5月31日～6月2日熊本). (抄録)