

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	山本 理哉
学位授与の条件	学位規則第4条第①・②項該当		
論文題目 Enhancing hepatic fibrosis in spontaneously hypertensive rats fed a choline-deficient diet (コリン欠乏食餌下高血圧自然発症ラットにおける肝線維化の促進)			
論文審査担当者			
主査	教授	安井 弥	印
審査委員	教授	浅野 知一郎	
審査委員	准教授	川上 由育	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）はメタボリック症候群を持つ患者の肝にしばしば認められ、肥満、脂質異常症、糖尿病、高血圧と深く関与する。高血圧の合併がNAFLD患者に多く報告され、また本態性高血圧患者では高率に肝脂肪化を伴うことから両者の因果関係が注目されている。申請者の研究室では高血圧自然発症ラット（spontaneously hypertensive rat: SHR）を用いて、肝内リン脂質代謝異常を誘導するコリン欠乏食（choline deficient diet: CD食）を負荷すると比較的短期（5週間）で酸化ストレス亢進を伴う肝脂肪化を惹起することからNAFLDモデルとして報告した。一方、NAFLDは肝線維化への進展と肝発癌リスクが臨床的に関心をもたれている。本研究では本モデルの長期飼育により肝線維化を含む肝病態の進展の有無とその発現メカニズムを検証した。</p> <p>8週齢雄のSHRと正常血圧対照ラットWKY（Wistar Kyoto rats）に対し、5週間及び20週間のCD食を負荷し（各群 n=5）、血清および肝組織中の脂質（遊離脂肪酸：FFA、中性脂肪：TG）と酸化ストレス指標（TBARS）の測定、さらに肝病理組織の評価を行うとともに、脂質代謝関連因子（脂肪酸代謝関連としてPPARαとACOX、肝TG分泌に関与するMTPとAPO-B100）、酸化ストレス関連因子（catalase、GPx、GST）ACOX、線維化関連因子（TGF-β、Vimentin、CTGF）の遺伝子発現を定量PCR法にて評価した。</p> <p>SHR群では5、20週間投与共にWKY群に比べて血清FFAが高値を示し、さらに5週間投与より20週間投与において著明に上昇していた。血清TGは5週間投与ではWKY群に比べてSHR群で低値であったが、20週間投与ではSHR群の方が高値であった。一方、肝内TG量は対照的に5週間投与でSHR群が上昇し、20週間投与で低下していた。肝内TBARS量は5週間投与ではSHR群でWKY群に比べて上昇していたが、20週間投与では両群間に差がなかった。肝臓の組織所見において、5週間投与のWKY群では僅かな脂肪変化を示すのみであったが、SHR群では顕著な脂肪変性を示した。さらに20週間</p>			

投与では SHR 群で明らかな線維性変化を示した。脂質代謝関連遺伝子 (PPAR α 、ACOX、MTP、APO-B100) は 5 週間投与では全ての項目において SHR 群で有意な減少が認められた。20 週間投与においては ACOX でのみ SHR 群で上昇し、その他の項目においては両群間で有意差は認められなかった。抗酸化酵素関連遺伝子 (catalase、GPx、GST) は、5 週間投与で SHR 群の発現が WKY 群に比べて低下していた。20 週間投与では GPx 以外では両群間に差がなく GPx でのみ SHR 群の方で低下していた。線維化関連遺伝子 (TGF- β 、Vimentin、CTGF) は、20 週間投与後 SHR 群において有意に上昇していた。

以上の所見より、本研究においてリン脂質代謝異常を引き起こす CD 食の長期投与により高血圧ラット SHR において肝脂肪化から肝線維化への進展が促進されることが明らかとなり、高血圧症に伴う非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデルになりうることを示された。5 週間の CD 食投与により、WKY 群に比較して SHR 群で肝細胞への TG 蓄積と肝脂肪化が促進され、更なる長期間継続により肝線維化が進展して、肝内に蓄積されなくなった TG の血中分泌が促進されたと考えられた。一方、脂肪酸や脂質のセンサーとして機能しエネルギー消費を促進させる PPAR α や脂肪酸代謝に関わる ACOX の遺伝子発現が 5 週間の CD 食投与により SHR 群において低下していたことから、 β 酸化や ω 酸化が減少し、肝脂肪化が助長されたと考えられた。さらに 20 週間の CD 食投与により SHR 群で顕著な線維化が起こり、逆に脂肪化は消退したことから、NASH における線維化の進展と共に肝内の中性脂肪滴が減少する”burnt-out NASH”と類似した現象が惹起されたものと思われた。NASH の病因の一つとして注目される活性酸素の役割については、5 週間の CD 食投与 SHR 群において Catalase、GPx、GST の抗酸化関連酵素の発現低下が認められ、活性酸素のスキャベンジャー機能が低下していることが示唆された。一方で 20 週投与による SHR 群で認められた肝線維化は GPx の低下が主に関与しているものと推測された。

以上の結果より、本研究では高血圧における酸化ストレス増強が、肝脂肪化を促進し、NAFLD から NASH を経て線維化へ進展させる促進因子として作用することを動物実験で明らかにした点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	山本 理哉
学位授与の条件	学位規則第4条第①・②項該当		
論文題目 Enhancing hepatic fibrosis in spontaneously hypertensive rats fed a choline-deficient diet (コリン欠乏食餌下高血圧自然発症ラットにおける肝線維化の促進)			
最終試験担当者			
主査	教授	安井 弥	印
審査委員	教授	浅野 知一郎	
審査委員	准教授	川上 由育	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定		合格	
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年5月8日の第69回広島大学研究科発表会（医学）及び平成29年5月17日の本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 線維化促進液性因子の肝内責任細胞 高血圧合併NAFLDに対する降圧薬の薬物介入によるNASH抑制 各種NAFLD動物モデルのなかでCD食負荷モデルの意義 本モデルにおけるレニン・アンジオテンシン系の関与 NASH関連肝癌における本モデルの役割と今後の展望 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			