

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	児玉 尚伸
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当			
論文題目 Decrease in major secondary bile acid, hyodeoxycholic acid, was the main alteration in hepatic bile acid compositions in a hypertensive nonalcoholic fatty liver disease model (主要な2次胆汁酸であるヒオデオキシコール酸の減少が、高血圧を伴った非アルコール性脂肪性肝疾患モデルの肝臓での主な胆汁酸組成の変化である)				
論文審査担当者				
主査	教授	浅野 知一郎	印	
審査委員	教授	檜山 英三		
審査委員	准教授	石田 万里		
〔論文審査の結果の要旨〕				
<p>非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) はメタボリックシンドロームを背景として世界的に罹患率が増加しており、その一部は肝硬変や肝臓癌に進展する予後不良例があり、その病態解明と治療法の確立は急務である。NAFLD の病態における胆汁酸代謝の役割は近年注目されているものの、NAFLD の胆汁酸組成についての先行研究は少ないうえ、それらの結果は必ずしも一致していない。この理由として NAFLD 患者では肥満、糖尿病をそれぞれ 51%および 22%に併存し、肥満、糖尿病それぞれ単独でも胆汁酸組成が変化することが影響している可能性が推測される。すなわち NAFLD 患者では高率に肥満、糖尿病が併存するため、NAFLD の肝脂肪化に伴う胆汁酸組成の変化を画一的に検討するだけでは不十分で、胆汁酸代謝を主眼に NAFLD の病態解明を行う場合には、併存疾患毎により詳細な検討が必要であると考えられる。著者は高血圧を有するが、肥満、糖尿病を併存しない NAFLD 動物モデルにおける胆汁酸代謝と肝脂肪化との関連について明らかにするため、胆汁酸組成、胆汁酸合成酵素、核内受容体の変化について検討を行った。</p> <p>6-8 週齢の高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rat:SHR) に標準食 (SHR-N 群、n=6) またはコリン欠乏食 (SHR-CD 群、n=6) を 5 週間投与した。血漿中 ALT、triglyceride (TG)、total cholesterol (TC)、血糖、総胆汁酸は酵素法にて、血漿中インスリン値は radioimmunoassay 法にて測定した。肝脂肪化については、ヘマトキシリン・エオジン染色を施行し、病理組織学的に評価した。さらに、肝臓より脂質抽出を行い、酵素法にて肝臓内中性脂肪量を定量した。肝臓内胆汁酸は Liquid chromatography-electrospray ionization- tandem mass spectrometry にて測定した。肝臓における胆汁酸合成酵素、核内受容体の mRNA 発現は real-time PCR にて検討した。</p> <p>SHR-CD 群の ALT は SHR-N 群に比べ増加した。TG、TC は SHR-CD 群では SHR-N 群に比べ増加しなかった。空腹時血糖は SHR-CD 群と SHR-N 群で有意差はなく、血漿中インスリン値、HOMA 指数は SHR-CD 群では SHR-N 群に比べ増加しなかった。総胆汁酸量は両群で有意差は認</p>				

めなかった。病理組織学的所見では SHR-CD 群では高度の脂肪沈着がみられ、SHR-N 群では脂肪沈着は認めなかった。肝臓内中性脂肪定量では SHR-CD 群の中性脂肪量は SHR-N 群に比べ約 19 倍と著明に増加しており、組織学的所見を支持する結果であった。肝臓内胆汁酸組成の検討では、総胆汁酸、一次胆汁酸、二次胆汁酸、非抱合胆汁酸、抱合胆汁酸のいずれにおいても両群に有意な変化を認めなかった。SHR-CD 群の胆汁酸組成の中で hyodeoxycholic acid (HDCA) が最大の変化を示し、SHR-CD 群の HDCA (26.5 ± 33.4 nmol/g) は SHR-N 群の HDCA (121.0 ± 86.0 nmol/g) に比べ著明に減少し、90 nmol/g 以上の差を示した。さらに HCA (hyocholic acid)、CDCA (chenodeoxycholic acid) も SHR-CD 群で有意な減少を認めたが、両者とも両群の差は 30 nmol/g 以下であった。肝臓における胆汁酸合成酵素、核内受容体の遺伝子発現については、Cyp7a1、Cyp8b1、Cyp7b1、Cyp27a1 及び Fxr、Shp、Lxr-alpha を評価したが、両群で有意差は認めなかった。これらの結果をまとめると、高血圧合併 NAFLD 動物モデルでは、①糖尿病、高脂血症を併存することなく、著明な肝脂肪化をきたした。②胆汁酸組成の変化は、二次胆汁酸 HDCA の減少が顕著であった。③胆汁酸合成酵素および胆汁酸代謝に関与する核内受容体の遺伝子発現は、非 NAFLD モデルと有意な差を認めなかった。

以上の結果から、本論文は高血圧合併 NAFLD 動物モデルで高度な肝脂肪化をきたした理由として、腸内細菌叢による一次胆汁酸から二次胆汁酸への変換が修飾されたことが関与している可能性が示唆された。本論文は NAFLD の病態解明に大きく貢献する特殊な動物モデルを樹立し、胆汁酸代謝に着目した解析を行ったことにより今後の検討課題を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があるものと認めた。