

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (薬学)	氏名	大月 佑也
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項 2 項該当		
論文題目			
ヒト肝キメラマウス由来肝細胞に蓄積された脂質の減少を目的とした高酸素培養系の構築			
論文審査担当者			
主査	教授	森岡 徳光	印
審査委員	教授	野村 渉	
審査委員	准教授	高橋 陵宇	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>薬剤誘発性肝障害 (drug-induced liver injury; DILI) は医薬品の開発中止や市場撤退の要因となる主要な副作用である。薬剤誘発性脂肪肝は DILI の 1 種であり, DILI 症例の約 30%が脂肪肝を発症していることが報告されている。DILI や薬剤誘発性脂肪肝を事前に予測することは重要であるものの, 実験動物とヒトにおける種差が原因となり, DILI を前臨床段階において精度よく予測することは困難である。著者は, 株式会社フェニックスバイオにより生産されている, 肝臓の約 80%がヒト肝細胞で構成されたヒト肝キメラマウスである PXB-mice[®]およびその単離肝細胞である PXB-cells[®]に着目した。PXB-mice[®]および PXB-cells[®]には脂質の蓄積が認められ, 脂質代謝研究に有用である一方, この肝細胞に蓄積した脂質が DILI, 特に薬剤誘発性脂肪肝の定性的・定量的な予測性を低下させることが懸念された。近年, 一般的な培養酸素条件である 20%酸素条件では酸素消費速度の速いラット肝細胞の酸素要求性を満たせていないこと, 通常培養酸素条件よりも低酸素である 1%酸素培養条件下で培養された HepG2 においては脂質代謝能が低下することが報告されている。20%酸素条件は酸素要求性の高い肝細胞にとって嫌気的環境であり, この嫌気的環境が肝細胞における脂質代謝能を低下させていることが推察された。これらの知見から, 通常培養酸素条件よりも高酸素条件下でキメラマウス肝細胞を培養することにより, 肝細胞に蓄積した脂質が減少する可能性を考えた。そこで著者は, 通常培養酸素条件よりも高酸素条件である 40%酸素条件下培養が肝細胞に蓄積した脂質におよぼす影響とその制御メカニズム, DILI, 特に薬剤誘発性脂肪肝予測評価系としてのキメラマウス肝細胞高酸素培養系の有用性を検討した。</p> <p>著者は, 40%酸素培養条件がキメラマウス肝細胞に蓄積した <i>in vivo</i> 由来の脂質におよぼす影響を Oil Red O 染色およびその色素を抽出・定量, Triglyceride (TG) 量の定量により評価した。また, 脂肪酸 β 酸化 (fatty acid β-oxidation; FAO) 活性の測定, microarray および Ingenuity Pathway Analysis (IPA)[®] (Qiagen) による脂質代謝関連経路の網羅的評価を行うことにより, 40%酸素培養条件がキメラマウス肝細胞に蓄積した <i>in vivo</i> 由来の脂質を減少させるメカニズムを検討した。キメラマウス肝細胞を 40%酸素条件下で培養することにより, FAO 活性の亢進を介して <i>in vivo</i> 由来の脂質が減少することを明らかとした。また, FAO に加えて, 脂肪酸の代謝や取り込みも脂質の減少に関与していることが示唆された。</p> <p>Liver X receptor (LXR) の活性化は肥満および脂肪症の発症を促進することが報告されている。著者は LXR アゴニストである T0901317 を用いて, 40%酸素培養することにより <i>in vivo</i> 由来の脂質を減少させたキメラマウス肝細胞は薬剤誘発性脂肪肝を定性的・定量的に予測評価できる系であるかを Oil Red O 染色およびその色素を抽出・定量, Cholestest[®] TG キットを用いた TG 量の定量により評価し</p>			

た。T0901317 濃度依存的な脂肪滴・TG の蓄積が認められ、薬剤誘発性脂肪肝を定性・定量的に評価できる系であることが示唆された。

また、培養上清中グルコース濃度、乳酸量、ヒト型アルブミン量を測定したところ、40%酸素培養条件はキメラマウス肝細胞にとって好气的環境であり、肝機能が賦活化していることが示唆された。肝細胞近傍の酸素濃度を測定したところ、生体肝臓の門脈周辺領域の酸素濃度と同程度であった。FAO やアルブミン分泌などは門脈領域に特異的な機能であり、40%酸素培養は生体肝臓環境、特に門脈周辺領域を模倣できる培養系であることが示唆された。

以上の結果より、高酸素培養系は生体肝臓環境を模倣できる培養系であり、高酸素培養により *in vivo* 由来の脂質を減少させたキメラマウス肝細胞は DILI や薬剤誘発性脂肪肝の予測評価をするうえで有用であると考えられる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（薬学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。