

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	市川 明美
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 Multi-omics analysis of a fatty liver model using human hepatocyte chimeric mice （ヒト肝細胞キメラマウスを用いた脂肪肝モデルのマルチオミクス解析）			
論文審査担当者			
主査	教授	大段 秀樹	印
審査委員	教授	渡邊 朋信	
審査委員	講師	原田 陽介	
〔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）は代謝関連脂肪性肝疾患（MAFLD）の 1 病型であり、肝硬変および肝細胞癌に進行する可能性のあること、罹患者が増加していることから世界的な問題となっている。しかしながら、その病因・病態は多彩であり、十分な病態解明には至っていない。一方、ヒト肝細胞キメラマウス（以下、キメラマウス）は生後間もなく肝不全を発症する高度の免疫不全マウス（cDNA-uPA+/+/SCID+/+マウス）にヒト肝細胞を移植したマウスであり、マウス肝臓が高度にヒト肝細胞に置換されている。同マウスのヒト肝細胞は、マウス成長ホルモン（GH）への反応性は乏しく、自然経過での肝臓の脂肪化が報告されている。本研究では、ヒト肝細胞キメラマウスにフルクトース含有高コレステロール食（GAN 食）の給餌やヒト肝細胞キメラマウスにヒト GH（hGH）の投与を実施することで、マウス肝組織の脂肪化を制御し、マウス肝組織のマルチオミクス解析による病態解析を行った。</p> <p>12 頭のキメラマウスを食餌の種類（GAN 食もしくは通常食（CRF1 食））及び hGH 投与の有無により 4 群に群別し（各群 3 頭）、8 週間の処置後にマウス肝組織を採取した。マウス肝組織よりヒト肝細胞を抽出し、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、メタボロミクス分析を行った。</p> <p>超音波検査において、GAN 食給餌マウスは CRF1 食給餌マウスに比して肝腎比が有意に高く（$p < 0.001$）、hGH 投与マウスでは非投与マウスに比して有意に低かった（$P=0.026$）。組織学的検査では、hGH 非投与下の GAN 食給餌・CRF1 食給餌いずれのマウスにおいても大滴性脂肪沈着と核の偏在化、肝線維化が観察されたのに対し、hGH 投与/CRF1 食給餌マウスでは肝脂肪化・肝線維化は観察されなかった。トランスクリプトミクス（RNA-seq）の結果、高度な脂肪肝を呈したマウス（hGH 非投与/GAN 食給餌マウス）と脂肪肝を呈さないマウス（hGH 投与/CRF1 食給餌マウス）の間では糖や脂肪の代謝に関わる遺伝子の発現が大きく異なることが明らかとなった。Weighted gene co-expression network analysis（WGCNA）を行ったところ、GAN 食および hGH 投与に関連する遺伝子としてそれぞれ SEMA7A と IGF1 が同定された。プロテオミクス解析では、hGH 投与下において GAN 食・CRF1 食給餌により</p>			

385 の蛋白に発現量の相違を認め、CRF1 食給下では hGH 投与・非投与により 217 の蛋白に発現量の相違を認めたが、その結果は RNA-seq 解析の結果とほぼ一致した。メタボロミクス解析では 437 の代謝物が検出され、RNA-seq 結果と比較すると、代謝産物の変化は食餌と hGH 投与により大きく変化した。hGH 投与マウスでは代謝物の変化はホスファチジルコリンの大きな増加に影響されており、特に CRF1 食給餌マウスでは hGH 投与が 1-methylnicotinamide の著明な増加と関連した。さらに、MetaboAnalyst による解析では、 β -alanine 代謝、pantothenate や CoA 生合成、estrone 代謝関連代謝物の発現が食餌により変化し、arginine や proline 代謝、D-arginine や D-ornithine 代謝、尿素サイクル関連代謝物の発現が hGH 投与にて大きく変化することが示された。Metabodiff による解析では、GAN 食給餌に関するモジュールとしてアミノ酸、ピリミジン、および脂肪酸の代謝に関連する代謝相関モジュールが同定された一方、hGH 投与に関するモジュールとしては少数のアミノ酸代謝に関連する代謝相関モジュールの同定にとどまった。最後に、これらのオミックス解析結果を用いてマルチオミクス解析を実施した。mixOmics 解析では、hGH 投与に関連する遺伝子は IL2/STAT5、GAN 食給餌に関連する遺伝子はコレステロール合成および脂肪酸代謝経路に強く関与していることが示された。一方、3 次元オミックス座標を作成したところ、各群が独立してクラスター化され、さらに、MiBiOmics 解析にてペリリピン-2 (PLIN2) が co-inertia driver として同定された。

以上の結果から、脂肪肝発症キメラマウスモデルにより食餌や hGH 投与による肝脂肪化と肝細胞内の遺伝子および蛋白質、脂質の発現変化が明らかとなった。

今回作成したマウスモデルは NAFLD に対する今後の新規治療の開発・薬効評価に応用できる可能性がある。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。