

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏 名 吉田 智彰
学 位 博士 (医学)
学 位 記 番 号 新大院博 (医) 第 977 号
学位授与の日付 令和3年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名 Blocking sphingosine 1-phosphate receptor 2 accelerates hepatocellular carcinoma progression in a mouse model of NASH.
(NASH モデルマウスにおいて、スフィンゴシン1リン酸受容体2の阻害は肝細胞がんの進を促す)

論文審査委員 主査 教授 若井 俊文
副査 教授 阿部 理一郎
副査 准教授 坂田 純

博士論文の要旨

【目的】最近のB型およびC型肝炎ウイルス治療薬の開発により、発展途上国ではウイルス関連の肝硬変および肝細胞癌(HCC)の有病率は急速に低下している。一方、慢性肝疾患の要因として、非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)が問題となってきた。NAFLDは非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を経て、肝線維化が進むと肝硬変に進展し、HCCを発症するリスクが高まる。NASHの患者数の増加に伴い、脂質関連の研究、特にスフィンゴシン1-リン酸(S1P)に関する研究が進んでいる。本研究では、NASHモデルマウスであるメラノコルチン4受容体-ノックアウト(Mc4r-KO)マウスに対して、S1P受容体(S1PR)1, 3-5の機能的阻害薬であるFTY720およびS1PR2を特異的に阻害するJTE-013を使用した肝の脂肪化、線維化、および発癌におけるスフィンゴシンキナーゼ(SPHK) / S1P / S1P受容体(S1PR)の役割を解明することを目的とした。

【方法】まずMc4r-KOマウスに8週齢から高脂肪食を与え、6-52週までの期間での経時的変化を観察した。対照群として通常食を与えたMc4r-KOマウスと比較検討した。次にマウスに8週齢から高脂肪食を16週間与えた後、FTY720、JTE-013、またはvehicleをそれぞれ10mg/kgで週2回4週間腹腔内投与し、28週齢で評価した。肝酵素、肝内の脂肪量、線維化の程度、およびHCCの発生を評価した。さらに、肝組織の変化を詳細に評価するために、リポドミクス解析とメタボロミクス解析を行った。

【結果】Mc4r-KOマウスではコントロール群としてS1PR1の発現は減少傾向にあり、S1PR2とS1PR3の発現は有意に増加していた。また、Sphk1の発現は増加していたが、Sphk2の発現は変わらなかった。次いでS1PRを阻害し、NASHにおけるS1PRの役割を検証した。FTY720、JTE-013によるS1PRの阻害により、肝の線維化はコントロール群に比して有意に進展した。またJTE-013投与群では8匹中3匹(37.5%)で腫瘍形成を認め、FTY720投与群を含む他のグループでは腫瘍形成は認めなかった。腫瘍形成のメカニズムを解明するため、メタボロミクス、リポドミクス解析を行った。メタボロミクス解析では、JTE-013群でメチル化異常を引き起こす可能性があるS-アデノシル-L-メチオニン(SAM)が上昇し、S-アデノシル-ホモシステイ

ン(SAH)は低下していた。SAM から SAH への代謝酵素であるグリシン N-メチルトランスフェラーゼ (GNMT) は JTE-013 群で低下していた。またメタボロミクス解析ではジアシルグリセロール (DG) およびトリアシルグリセロール (TG) の上昇を認めた。さらに、肝臓のホスファチジルコリン (PC) /ホスファチジエタノールアミン (PE) 比は JTE-013 グループで増加傾向であった。これらの表現型は肝発癌が促進される Gmmt-KO マウスの表現型と類似しており、S1P / S1PR2 の障害が肝内のメチル化異常を惹起し、肝臓での癌形成を増加させる可能性があると考えられた。

【考察】本研究は SPHK / S1P / S1PR2 の障害がメチオニン代謝に関与する SAMe 上昇を惹起することを初めて示した。SAMe から SAH への代謝酵素である GNMT は HCC の発癌に関わる因子であると考えられている。Gmmt-KO マウスでは、肝臓の SAMe が蓄積することで、PEMT 経路を介した PC 合成が刺激される。その結果生成された過剰な DG、TG が蓄積し、肝脂肪化を引き起こす。申請者の結果は、S1PR2 を障害した NASH モデルマウスにおいて、DG と TG が増加し、肝臓での発癌を惹起する点において、上記の Gmmt-KO マウスの表現型と類似していることを明らかにした。以上より SPHK / S1P / S1PR、特に S1PR2 と GNMT、SAMe との関連は、NASH において新たな発癌機構であると考えられた。S1PR2 受容体の抗腫瘍効果に関する申請者の発見は、NAFLD 患者の HCC の発生の予防、および治療において重要な知見となると考えられた。

審査結果の要旨

【目的】本研究では、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデルマウスであるメラノコルチン 4 受容体ノックアウト (Mc4r-KO) マウスに対して、S1P 受容体 (S1PR) 1, 3-5 の機能的阻害薬である FTY720 および S1PR2 を特異的に阻害する JTE-013 を使用し、肝の脂肪化、線維化、および発癌におけるスフィンゴシンキナーゼ (SPHK) / S1P / S1PR 受容体 (S1PR) の役割を解明することを目的とした。【方法】Mc4r-KO マウスに 8 週齢から高脂肪食を与え、6-52 週までの期間での経時的変化を観察した。マウスに 8 週齢から高脂肪食を 16 週間与えた後、FTY720、JTE-013、または vehicle をそれぞれ 10mg / kg で週 2 回 4 週間腹腔内投与し、28 週齢で評価した。肝酵素、肝内の脂肪量、線維化の程度、および HCC の発生を評価した。さらに、肝組織の変化を詳細に評価するために、リポドミクス解析とメタボロミクス解析を行った。【結果】FTY720、JTE-013 による S1PR の障害により、肝の線維化はコントロール群に比して有意に進展した。JTE-013 投与群では 8 匹中 3 匹 (37.5%) で腫瘍形成を認め、FTY720 投与群を含む他のグループでは腫瘍形成は認めなかった。メタボロミクス解析では、JTE-013 群でメチル化異常を引き起こす可能性がある S-アデノシル-L-メチオニン (SAM) が上昇し、S-アデノシル-L-ホモシステイン (SAH) は低下していた。SAM から SAH への代謝酵素であるグリシン N-メチルトランスフェラーゼ (GNMT) は JTE-013 群で低下していた。またメタボロミクス解析ではジアシルグリセロール (DG) およびトリアシルグリセロール (TG) の上昇を認めた。肝臓のホスファチジルコリン (PC) /ホスファチジエタノールアミン (PE) 比は JTE-013 グループで増加傾向であった。これらの表現型は肝発癌が促進される Gmmt-KO マウスの表現型と類似しており、S1P / S1PR2 の障害が肝内のメチル化異常を惹起し、肝臓での癌形成を増加させる可能性があると考えられた。

本研究は、SPHK / S1P / S1PR、特に S1PR2 と GNMT、SAMe との関連性を解明し、NASH における新たな発癌機構であることを明らかにした。本研究結果を Biochem Biophys Res Commun に誌上発表しており、学位論文として価値のある研究成果であると判断した。