

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 鈴木 浩史  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博 (医) 第 1022 号  
学位授与の日付 令和3年9月21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 Meal ingestion *Ceraceomyces tessulatus* (Agaricomycetes) protects against NASH in mice.  
(越後白雪茸のマウスでの食事摂取によるNASH進行抑制効果)

論文審査委員 主査 教授 笹岡 俊邦  
副査 特任教授 上村 顕也  
副査 特任准教授 上村 博輝

### 博士論文の要旨

**【背景と目的】** 非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis: NASH) は脂肪肝を背景として肝細胞癌へと進展する生活習慣病であり、世界中で健康寿命延伸を妨げる要因の一つとして大きな問題となっている。NASHの病態については依然として不明な点も多いが、酸化ストレスがその病勢の進行に関わっていることが報告されており、酸化ストレスを軽減させることでNASHの病勢の進行を抑制できることが示唆されている。酸化ストレスを軽減させる抗酸化作用をもつ食品は多く報告されているが、キノコ類は抗酸化作用をもつことが知られており、中でも新潟県魚沼地区で発見された越後白雪茸は強い抗酸化作用をもつことが報告されている。申請者らの研究室では、越後白雪茸をNASHモデルマウスにゾンデを用いて強制投与することでNASHの進行抑制効果を認めたことを報告しているが、越後白雪茸を食事にまぜてNASHモデルマウスに自由摂取させた研究成果は報告されていない。

本研究では、NASHモデルマウスを用いて、越後白雪茸乾燥粉末を配合した飼料を自由摂取させ、高脂肪食のみを自由摂取させた群と比較してNASHの進行抑制効果がみられるかを目的として行った。

**【方法】** NASHモデルマウスの作成は、既知の方法で行った。すなわち、生後2日目のC57/BL6J仔マウスに200 $\mu$ gのストレプトゾトシン (Streptozotocin: STZ) を皮下注射して糖尿病を発症させ、4週齢より高脂肪食を摂取させた。今回の研究ではオスのみを対象とし、10週齢から高脂肪食群と越後白雪茸群に分けた。10週齢からは高脂肪食群にはそのまま高脂肪食のみを自由摂取させ、越後白雪茸群には高脂肪食に20%の越後白雪茸乾燥粉末を混ぜた越後白雪茸配合飼料を自由摂取させた。エネルギーとして、高脂肪食と越後白雪茸配合飼料は等しくなるように調製した。高脂肪食群と越後白雪茸群とは別に、通常食群として同週齢のオスのSTZ未処置のC57/BL6Jマウスに通常食 (CE-2) を自由摂取させた。すべてのマウスは14週齢で解剖を行い、血液と肝臓を摘出してそれぞれの群間比較を行った。

**【結果】** 血液検査では、高脂肪食群で通常食群と比較して有意に肝機能障害の指標であるAST (Aspartate aminotransferase)・ALT (Alanine aminotransferase)の上昇が認められたものの、越後白雪茸群ではその上昇が有意に抑制された。肝臓の組織学的評価では、高脂肪食群では通常食群と比較して肝臓の繊維化・

炎症細胞の出現など NASH の強い進行が認められたが、越後白雪茸群ではその肝臓の傷害の進行が抑制されていた。肝臓の繊維化指標として用いられる NAFLD activity score においても、高脂肪食群では通常食群より有意に高く、越後白雪茸摂取群では高脂肪食群と比較して低くなっていた。肝臓で脂肪酸の合成に関わる SREBP-1 (Sterol regulatory element binding protein-1) および脂肪酸の  $\beta$  酸化に関わる PPAR  $\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ ) については、いずれも高脂肪食群で通常食群より増加し、その増加は越後白雪茸群で抑制されていた。肝臓の中性脂肪については、高脂肪食群で通常食群と比較して増加していたが、越後白雪茸群ではその増加が抑えられていた。体重、食事摂取量および摂取エネルギーについては、越後白雪茸群では通常食群と高脂肪食群どちらと比較しても有意に減少していた。

【考察】申請者らの研究室では、すでに越後白雪茸を NASH モデルマウスにゾンデを用いて強制的に摂取させることで肝保護作用を示すことを報告している。本研究は、越後白雪茸乾燥粉末を飼料に混ぜて自由摂取させることでも肝保護作用を認めるかを調べたものである。今回の研究では越後白雪茸群で高脂肪食群と比較して NASH の進行抑制が確認されたが、越後白雪茸群では他の群と比較して食事摂取量が少なく、体重も小さかった。機序は不明であるが、他の研究者らの報告でも越後白雪茸による抗肥満作用が報告されている。高脂肪食と越後白雪茸乾燥粉末を混ぜた特殊飼料のエネルギーは等しくなるように調節しているので、越後白雪茸には食欲抑制効果、およびそこからつながる体重減少効果があるのかもしれない。蛋白分析において、越後白雪茸群では脂肪酸の合成に関わる SREBP-1 と同様に、脂肪酸の  $\beta$  酸化を促し血中の中性脂肪の低下に関わる PPAR- $\alpha$  も増加が抑制されていた。越後白雪茸摂取群では肝臓の中性脂肪も低くなっており、肝臓への脂肪酸プールが減少することで SREBP-1 も PPAR  $\alpha$  も発現が減少していたものと推測される。

【結論】越後白雪茸乾燥粉末を食事に混ぜて NASH モデルマウスに自由摂取させたところ、強制投与時と同じく肝保護作用を示し、また食事摂取量減少効果、体重減少効果が示された。その機序としては不明な点が多いが、今後、食欲に関する研究を更に進めていき、越後白雪茸による肝保護作用および食事摂取量減少効果の解明に努めていきたい。

#### 審査結果の要旨

非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis: NASH) は脂肪肝を背景として肝細胞癌へと進展する生活習慣病であり、世界中で健康寿命延伸を妨げる要因の一つとして大きな問題となっているが、その発症や進行の抑制には難渋することも多い。日常的に摂取する食品により NASH の発症や進行を抑制することができれば、国民の健康増進に大きく寄与できるものと考えられる。越後白雪茸 (Basidiomycetes-X: BDM-X)・Ceraceomyces tessulatus (Agaricomycetes) は新潟県魚沼で発見されたキノコであり、優れた抗酸化力をもつことが報告されている。越後白雪茸を NASH モデルマウスにゾンデを用いて強制投与することで NASH の進行抑制効果を認めたことは報告されているが、越後白雪茸を食事にまぜて NASH モデルマウスに自由摂取させた研究成果は報告されていない。

本研究は、通常食のみを摂取させる normal 群、既存の方法で NASH モデルマウスを作成する NASH 群、NASH モデルマウスに BDM-X を重量換算で 20% 配合した高脂肪食を 10 週齢から自由摂取させる NASH+BDM-X 群を用いて行われた。14 週齢で全てのマウスを解剖し、血液と肝臓を摘出して評価に用いた。

NASH+BDM-X 群においては、normal 群および NASH 群と比較して食事摂取量、摂取エネルギー量が減少し、体重が減少しており、NASH 群で認められた血中および肝臓の中性脂肪の上昇が認められず、NASH 群と比較して NASH の進行が抑制されていた。肝臓の蛋白分析では脂肪酸合成に関わる SREBP-1 (Sterol regulatory element binding protein-1) および脂肪酸の  $\beta$  酸化を促し中性脂肪の低下に関わる PPAR  $\alpha$  (Peroxisome

proliferator-activated receptor- $\alpha$ ) のいずれも NASH 群で上昇し、NASH+BDM-X 群ではその上昇が認められなかった。

越後白雪茸を摂取した群では、食事摂取量が減少することで肝臓内の脂肪酸プールが減少し、SREBP-1 も PPAR $\alpha$  も上昇が認められなかったものと推測された。越後白雪茸を強制投与した先行研究ではみられなかった現象であり、越後白雪茸を自由摂取させることで食欲抑制効果・抗肥満効果が発揮され、NASH の進行が抑制された可能性が示唆されることは新規性があり、博士論文としての価値を認めるものである。