

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 佐藤 毅昂
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 1046 号
学位授与の日付 令和4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 Severe steatosis and mild colitis are important for the early occurrence of hepatocellular carcinoma.
(肝細胞癌の早期発症に重度の肝脂肪化と軽度大腸炎が重要)

論文審査委員 主査 教授 若井 俊文
副査 教授 西條 康夫
副査 准教授 小林 隆

博士論文の要旨

目的

近年、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は増加傾向にあります。非アルコール性脂肪肝炎の患者は肝臓の発生率が高いことは認識されていますが、非アルコール性脂肪肝炎から肝臓に至る原因は解明されていません。原因の一つとして、腸管からの物質が非アルコール性脂肪肝炎に影響を与える可能性が示唆されています。申請者らは代表的な非アルコール性脂肪肝炎のモデルであるメラノコルチン4受容体欠損 (Mc4r-KO) マウスに、代表的な炎症性腸疾患のモデルであるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を長期投与して大腸炎を誘発しました。それにより、ヒト肥満患者に炎症性腸疾患を合併した際、肝臓発症に対する非アルコール性脂肪肝炎と炎症性腸疾患の影響を解明することを目的としました。

方法

メラノコルチン4受容体欠損マウスでデキストラン硫酸ナトリウム腸炎を合併させた際に肝臓発症等の影響を検証するため、26週間通常食 (standard chow) のみを食べる群 (SC群)、通常食の摂取を継続し8週目よりデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 腸炎を6サイクル起こす群 (SC+DSS群)、8週目より高脂肪食 (high fat diet) を開始する群 (HFD群)、そして8週目より高脂肪食にデキストラン硫酸ナトリウム腸炎を6サイクル起こす群 (HFD+DSS群) の4群に分けて検証を行いました。デキストラン硫酸ナトリウム腸炎は、1%のデキストラン硫酸ナトリウムを自由飲水で1週間投与し、その後2週間の休薬を1サイクルとしました。大腸は腸管長や病理スコア、Disease Activity Index (DAI) で評価しました。肝臓に関しては血液検査、病理学的検査では小葉の炎症、脂肪化の程度、肝細胞の風船様腫大を用いて非アルコール性脂肪肝炎を評価するNAFLD Activity Score (NAS) を用いて評価を行いました。また、免疫組織化学検査やヒドロキシプロリンといった項目で肝臓線維化の評価も行いました。

結果

高脂肪食を投与した群では、通常食投与と比較し体重の増加を認めました。また、デキストラン硫酸ナトリウムを投与した群ではコントロールと比較して体重の減少を認めました。HFD群とHFD+DSS群に関して検

討すると、体重、肝体重比、アルブミン、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) はHFD群で有意に高値でした。病理組織ではNAFLD Activity Score (NAS) に基づき評価を行いました。肝細胞の風船様腫大はHFD群とHFD+DSS群で有意差を認めませんでした。脂肪化の程度はHFD群で高値であり、小葉の炎症はHFD+DSS群で高値でした。NAFLD Activity Score (NAS) に有意差はありませんでしたが、脂肪化の程度と小葉の炎症の状態は異なることが判明しました。肝線維化についても評価を行いました。シリウスレッド染色、ヒドロキシプロリンいずれにおいても、HFD+DSS群はHFD群よりも肝線維化を有意に認める結果でした。F4/80染色においてもHFD+DSS群はHFD群よりマクロファージが多く存在していることが示されました。また、通常ではHFD群ではまだ腫瘍が発現しない生後26週で、HFD+DSS群のみ6.10%の割合で肝腫瘍を発現したマウスを認めました。次にHFD+DSS群の中でどのようなマウスに腫瘍が出現したかを解析するため、HFD+DSS群を腫瘍が出現したマウス (HFD+DSS cancer群) と出現しなかったマウス (HFD+DSS non cancer群) に分け、HFD群も加えて検討しました。最も違いが見られたのが体重の増加であり、HFD+DSS non cancer群ではデキストラン硫酸ナトリウム投与と同時に体重減少が認められたにもかかわらず、HFD+DSS cancer群ではHFD群と比較したときに体重増加がデキストラン硫酸ナトリウム投与70日程度まで体重減少を認めませんでした。更に体重、肝体重比、血清マーカー、線維化マーカー、腸管長、NAFLD (nonalcoholic fatty liver disease) Activity Score、DAI score等を検討したところ、数が少なく有意差は認めませんでした。軽度の腸炎、高度の脂肪化、マクロファージを多く認め線維化も適度にある個体で肝腫瘍を発現している傾向にあることが判明しました。

考察

HFD + DSS群のうち6.10%と割合は低いものの、肝発癌まで通常は約1年という報告の約半分の期間である生後26週で肝腫瘍発現を認めました。他群では肝発癌は認めておらず、非アルコール性脂肪肝炎と炎症性腸疾患という複数の要因で早期に肝発癌を来したと考えられました。また、申請者らは重度の脂肪肝炎に軽度の腸炎が加わった状態で、早期の肝発癌を誘発することを示しました。過去にも非アルコール性脂肪肝炎に腸炎を誘発することで肝発癌を来した報告はありますが、申請者らの研究はヒトと同様の肥満とインスリン抵抗性を示すメラノコルチン4受容体欠損を使用しており、申請者らの動物モデルは脂肪肝炎、線維化、肝癌を評価するために重要と考えられます。

審査結果の要旨

【目的】非アルコール性脂肪肝炎のモデルであるメラノコルチン4受容体欠損 (Mc4r-KO) マウスに炎症性腸疾患のモデルであるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を長期投与して大腸炎を誘発し、肝癌発症に対する非アルコール性脂肪肝炎と炎症性腸疾患の影響を解明することを目的とした。

【方法】26週間通常食 (standard chow) のみを食べる群 (SC群)、通常食の摂取を継続し8週目よりデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 腸炎を6サイクル起こす群 (SC+DSS群)、8週目より高脂肪食 (high fat diet) を開始する群 (HFD群)、そして8週目より高脂肪食にデキストラン硫酸ナトリウム腸炎を6サイクル起こす群 (HFD+DSS群) の4群に分けて検証を行った。

【結果】HFD + DSS群のうち6.10%と割合は低いものの、肝発癌まで通常は約1年という報告の約半分の期間である生後26週で肝腫瘍発現を認めた。他群では肝発癌は認めておらず、非アルコール性脂肪肝炎と炎症性腸疾患という複数の要因で早期に肝発癌を来したと考えられた。

本研究は、ヒトと同様の肥満とインスリン抵抗性を示すメラノコルチン4受容体欠損を使用しており、動物モデルは脂肪肝炎、線維化、肝癌を評価するために重要と考えられた。本研究を Biochemical and Biophysical Research Communications. 2021, 566:36-44. 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。