

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 森田 真一
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 1083 号
学位授与の日付 令和4年9月20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 Daisaikoto improves fatty liver and obesity in melanocortin-4 receptor gene-deficient mice via the activation of brown adipose tissue.
(大柴胡湯は、褐色脂肪組織の活性化を介して、メラノコルチン4受容体遺伝子欠損マウスの脂肪肝と肥満を改善する)

論文審査委員 主査 教授 平島 正則
副査 教授 若井 俊文
副査 准教授 小林 隆

博士論文の要旨

背景と目的

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の全世界での推定有病率は2011-2015年で26.8%であり、今後も増加傾向が予測されている。NAFLDの約10%は進行性で肝硬変や肝臓の発生母地になる病態であり、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) と呼ばれる。NAFLDに対する有効性が確立している薬物治療は無く、海外や本邦に於けるガイドラインでは食事・運動療法による減量が現在の治療目標となっている。

メラノコルチン4受容体遺伝子 (MC4R 遺伝子) は主に視床下部の摂食中枢に発現し、摂食やエネルギー消費の調節に重要とされており、ヒトに於いても遺伝性肥満の原因遺伝子であることが知られている。MC4R 遺伝子欠損 (MC4R-KO) マウスは高脂肪食投与でインスリン抵抗性・脂質異常症といった肥満に伴う合併症を基盤とし、20週でNASH様病変を、約1年で肝臓を発症する。加えて、MC4R 遺伝子はマウスでは自律神経系の制御を介して褐色脂肪組織のエネルギー産生にも関与し、摂食調節と合わせて肥満形成に関与すると考えられている。

一方で、大柴胡湯は生薬である柴胡を主体とした漢方薬で、動物実験においては中性脂肪の低下効果、インスリン抵抗性の改善効果が示されており、脂肪肝と肥満に対する治療効果が期待されている。以上より今回申請者らは、MC4R-KO マウスを用いて大柴胡湯の脂肪肝と肥満に対する抑制効果の検証と、その機序について解析した。

方法

8週齢のMC4R-KO雄マウス12匹に対し、8週齢まで通常食を投与した。マウスは通常食 (SD) 群、高脂肪食 (HFD) 群、大柴胡湯 (DSK) 群にランダムに4匹ずつ配分した。SD群は通常食を、HFD群は10%通常食を含む90%高脂肪食を、DSK群は10%大柴胡湯を含む高脂肪食をそれぞれ4週間投与し、12週齢で肝臓、肩甲骨間の褐色脂肪組織、腹腔内の白色脂肪組織、血液、糞便をそれぞれ採取し、解析した。

結果

12週齢時点の体重は、SD群が 37.6 ± 1.8 g、HFD群が 49.5 ± 0.8 g、DSK群が 37.5 ± 2.4 g、肝体重比はSD群が 5.48 ± 0.32 %、HFD群が 7.02 ± 0.65 %、DSK群が 5.49 ± 0.32 %であり、いずれもHFD群で有意に高値であった ($P < 0.001$, $P = 0.001$)。また、1日あたりの食餌摂取量はSD群が 4.8 ± 0.2 g、HFD群が 4.1 ± 0.5 g、DSK群が 3.5 ± 0.2 gであり、SD群は他2群に比し有意に多いものの、DSK群とHFD群の比較では有意な差は認めなかった ($P = 0.088$)。以上より、大柴胡湯は摂取カロリー量を減少させることなく、体重増加及び肝脂肪沈着を減少させることが示された。

血液生化学的検索により、DSK群はHFD群に比べ、肝逸脱酵素と総コレステロール値、総蛋白量は有意に低下していたが、リパーゼ、中性脂肪および血中ケトン体は有意差を認めなかった。また血清インスリンレベルとホメオスタシスモデル評価推定インスリン抵抗性 (HOMA-IR) は、HFD群よりもDSK群で有意に低かった。

褐色脂肪組織では、SD群とHFD群で褐色脂肪細胞の白色化が認められた一方で、DSK群では細胞質が残存していた。また免疫染色にて熱産生に関わる機能を持つミトコンドリア脱共役蛋白質 (UCP1) の発現を確認したところ、SD群とHFD群に比べDSK群では有意に高値であった。マウスではUCP1の発現が野生型マウスと比較して有意に低下しており、大柴胡湯投与による褐色脂肪細胞の機能復元によってUCP1の発現が上昇し、熱産生を改善することが示唆された。

考察

大柴胡湯の抗肥満作用はいくつかの報告で示されているが、そのメカニズムは完全には解明されていない。大柴胡湯の抗肥満作用の機序としては、腸内リパーゼ活性および脂質吸収阻害、脂肪細胞へのグルコース取り込み促進、腸内細菌叢の調節などが既に報告されている。一方、大柴胡湯と褐色脂肪組織の機能との関係についての既報は確認できなかった。

MC4R-KOマウスでは、高脂肪食負荷とは無関係に褐色脂肪組織の白色化によりUCP1発現が低下、また内臓脂肪細胞での脂肪蓄積が増加しており、脂肪細胞の機能不全が起きていることが確認された。申請者らは大柴胡湯がMC4R遺伝子欠損によりもたらされた脂肪細胞の機能不全を改善することを証明し、その結果として恒常的な熱産生と基礎代謝が回復し、肝臓での脂肪分解を促進および、インスリン抵抗性改善が起こることが示唆された。更にこのメカニズムは、褐色脂肪組織の機能が保たれている野生型マウスでは観察されなかった。

以上より、大柴胡湯は、肥満、脂肪肝の治療薬として有用である可能性が示唆された。

審査結果の要旨

非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は進行性で肝硬変や肝癌の発生母地になる病態であるが、未だ有効性が確立している薬物治療は無い。摂食調節や褐色脂肪組織のエネルギー産生に関わるメラノコルチン4受容体を欠損する (MC4R-KO) マウスは、高脂肪食投与でインスリン抵抗性・脂質異常症といった肥満に伴う合併症を基盤とし、進行性にNASH様病変や肝癌を発症する。申請者は、MC4R-KOマウスを用いて大柴胡湯の脂肪肝と肥満に対する抑制効果を解析した。MC4R-KO雄マウスに対し、通常食 (SD群)、高脂肪食 (HFD群)、大柴胡湯を含む高脂肪食 (DSK群) をそれぞれ4週間投与したところ、体重および肝体重比はHFD群で有意に高値であった。HFD群とDSK群の比較で1日あたりの食餌摂取量には有意差を認めなかった。さらにHFD群と比較して、DSK群では肝逸脱酵素、総コレステロール値、総蛋白量、血清インスリン値、ホメオスタシスモデル評価推定インスリン抵抗性 (HOMA-IR) の低下を認めた。また褐色脂肪細胞においては、ミトコンドリア脱共役蛋白質 (UCP1) の発現が高値となり熱産生を改善することが示唆された。

本研究によって、大柴胡湯がMC4R欠損による褐色脂肪細胞の機能不全を改善して脂肪分解およびインスリン抵抗性の改善を促すことから、肥満、脂肪肝を改善させる薬として有用である可能性を示した点で意義は高く、博士論文としての価値を認める。