

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	大越 麻理奈
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 1109 号
学位授与の日付	令和5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	Effects of a selective PPAR α modulator, sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor, and statin on the myocardial morphology of medaka nonalcoholic fatty liver disease model. (非アルコール性脂肪性肝疾患モデルメダカの心筋病変に対する選択的 PPAR α モジュレーター、ナトリウム-グルコース共輸送体2阻害剤、スタチンの有効性の検討)
論文審査委員	主査 教授 猪又 孝元 副査 教授 佐藤 昇 副査 准教授 小林 隆

博士論文の要旨

【目的】

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は代謝異常を伴うことが多く、肝臓の病態だけでなく、様々な心血管系合併症により不良な予後と関連することが多い。そこで本研究では、高脂肪食 (HFD) によって作成された NAFLD モデルのメダカを用いて、NAFLD 関連心疾患のメカニズムを解析し、様々な代謝経路を標的とする薬剤の治療効果について検証して NAFLD の心臓合併症の対処法を検討することを目的とした。

【方法】

申請者らのグループがこれまでに確立した HFD 給餌による NAFLD モデルメダカを対象として、心筋の肉眼的構造変化、組織学的変化、炎症性変化を、対照群と経時的に比較検証した。これらのモデルメダカに NAFLD の治療薬としてその有効性が報告されている選択的ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α モジュレーター (SPPARM α) のペマフィブラート、糖尿病治療薬として心血管イベントを軽減することが知られているナトリウムグルコース共輸送体2 (SGLT2) 阻害薬のトホグリフロジン、コレステロール低下作用に加えて RhoA および Ras シグナル伝達の阻害により肝臓の炎症を減少させるピタバスタチンを単剤あるいは併用で投与し、心臓の病態の改善傾向を評価した。さらに、治療効果のメカニズムを明らかにするため、肝臓の炎症に関連する遺伝子群の発現変化を全トランスクリプトームシーケンス解析により評価した。

【結果】

組織学的分析により、NAFLD メダカの心臓サイズは、対照メダカと比較して時間依存的に有意に増大が見られ、この変化が心筋細胞の肥大によることが明らかであった ($p < 0.001$)。そして、この心筋の肥大は、上記の3薬剤で抑制され、心臓肥大も制御された。この中で、ペマフィブラートとトホグリフロジンの併用による心臓および心筋細胞の肥大制御の効果は他剤に比して統計学的に有意に効率的であった。これらの結果から、NAFLD メダカは、心筋細胞の肥大化を呈し、心肥大を起こしていることが示唆された。NAFLD 関連心疾

患の病態に対する炎症細胞の浸潤と TGF- β 1 の影響を評価したところ、NAFLD メダカは、F4/80、CD4、CD8 陽性細胞数が、対照メダカに比べ、時間依存的に有意に増加していた。TGF- β 1 染色では、メダカの心筋細胞における陽性染色領域は HFD 給餌により増加し、上記の薬剤により減少した。これらの結果は、炎症細胞の浸潤と TGF- β 1 の活性化により、心筋細胞の肥大が誘発され、さらに NAFLD 治療薬がその変化を抑制されることを示唆した。

肝臓での炎症制御、脂肪性変化の抑制が、心筋の炎症、肥大制御にどのように関連するのかその機序を明らかにするため、NAFLD の全身性炎症変化の誘導に関与することが知られている肝細胞での老化関連分泌表現型 (SASP) 関連遺伝子の発現変化を検討した。NASH モデルメダカでは、肝臓からの SASP が他臓器への炎症細胞浸潤を増加しており、さらに上記薬剤投与による NAFLD の進行抑制が肝細胞の SASP 関連遺伝子の発現低下、心臓への炎症細胞浸潤の抑制に結びついた。これらの結果は、NAFLD 治療薬が肝病態の制御によりその心血管イベントを抑制した臨床データと矛盾しない。以上より、我々の結果は、代謝経路を標的とした治療オプションが NAFLD 関連の心臓の臓器障害を制御しうることを明らかにした。

【結論】

NAFLD に関連する心疾患は、老化関連分泌表現型 (SASP) 関連遺伝子による心筋壁の炎症活性に起因し、心筋肥大を引き起こすことが明らかになった。さらに、メダカ NAFLD モデルの心臓変化に対する SPPARM α 、SGLT2 阻害剤、スタチンの単剤および併用の効果を明らかにした。

審査結果の要旨

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の動物モデルである高脂肪食 (HFD) 下 NAFLD モデルメダカの心臓サイズは、対照メダカと比較し有意に増大し、心筋細胞が肥大した。選択的ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α モジュレーター (SPPARM α) のペマフィブラート、糖尿病治療薬として心血管イベントを軽減するナトリウムグルコース共輸送体 2 (SGLT2) 阻害薬のトホグリフロジン、RhoA および Ras シグナル伝達の阻害により肝臓の炎症を減少させるピタバスタチンの投与は、いずれも NAFLD モデルメダカの心筋肥大を抑制した。一方、心筋内の炎症細胞浸潤は時間依存的に増加し、TGF- β 1 染色陽性領域は HFD 給餌により増加し、上記薬剤により減少した。ここで、NAFLD の全身性炎症変化の誘導に関与する老化関連分泌表現型 (SASP) 関連遺伝子が、上記薬剤投与により肝細胞で発現は低下し、心臓への炎症細胞浸潤を抑制した。

本研究によって、NAFLD に関連する心疾患は、老化関連分泌表現型 (SASP) 関連遺伝子による心筋壁の炎症活性に起因し、心筋肥大を引き起こし、SPPARM α 、SGLT2 阻害剤、スタチンの単剤および併用の効果を明らかにした点で意義は高く、博士論文としての価値を認める。