

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 鳥庭 靖文  
 学位 博士 (農学)  
 学位記番号 新大院博 (農) 第 190 号  
 学位授与の日付 平成 31 年 3 月 25 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 肥満 2 型糖尿病モデル SDT fatty ラットにおける非アルコール性脂肪  
 肝炎発症の早期化の検討と各種薬剤の薬効評価

論文審査委員 主査 教授・山田 宜永  
 副査 教授・高田 良三  
 副査 教授・杉山 稔恵  
 副査 教授・中野 優  
 副査 所長・新村 末雄 (放送大学新潟学習センター)  
 副査 主席研究員・太田 毅 (日本たばこ産業株式会社)

博士論文の要旨

Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) は肝がんや肝移植の原因疾患としての懸念が高まっているが、現時点において NASH を適応とした薬剤は存在しておらず、その開発が急務とされている。薬剤開発のためには実験動物を用いた薬効評価が非常に重要となるが、複雑なヒト NASH 病態を完全に模倣できている病態モデル動物はなく、特に肥満 2 型糖尿病を背景疾患として、重篤な肝線維化を発症する NASH モデル動物は存在していない。雌性 Spontaneously diabetic torii (SDT) fatty ラットは過食を伴う新規の肥満 2 型糖尿病モデル動物であり、長期飼育条件下において、通常食条件で肝線維化を発症することが確認できている。本研究では、雌性 SDT fatty ラットの肝線維化発症早期化のための検討を実施し、そのメカニズムの把握とともに、ヒト NASH で有効性が確認できている薬剤の薬効評価を通じて、本モデル動物がヒト NASH 治療薬開発のためのツールとなりうるかどうかを検証した。

第二章では、雌性 SDT fatty ラットの肝線維化発症早期化のための検討として、食事からの脂質の過剰摂取による影響を検討した。高脂肪食 (HF)、高コレステロール食 (HC) 負荷による肝線維化への影響を検討した結果、HC 群で肝線維化の発症が 16 週齢で認められ、通常食 (NC) 給餌群と比較して顕著に発症が早期化することが確認できた。一方で、HF 群では 24 週齢までの検討では NC 群と明らかな差は認められなかった。HF 群とは異なり、HC 群では NC 群と比較した際に肝臓での顕著な脂質蓄積亢進が確認できた。NC 群、HF 群、HC 群での肝遺伝子発現を確認した結果、肝脂質合成遺伝子群について HC 群では NC 群と比較した際に差は認められなかったが、HF 群において NC 群よりも低下していることが確認できた。脂肪肝患者では、肝臓での脂質蓄積要因の中で脂質合成が脂肪肝発症に重要であり、それは SDT fatty ラットにおいても同様であることが示唆された。また、HC 群においては肝脂質分泌関連因子であるミクロソームトリグリセリド輸送タンパク質の遺伝子発現が低下していた。この点もヒト NASH 患者において同様の変化が確認できており、NASH 発症に重要な因子であると考えられた。

第三章では、HC 負荷による雌性 SDT fatty ラットの病態をより詳細に解析するため、蓄積している肝臓中脂質の詳細な解析および血中コリン濃度の測定を行った。その結果、肝臓中のジアシルグリセロール (DAG) と酸化 DAG の蓄積亢進が確認できた。これらの脂質は炎症悪化に寄与することが報告されている。また、肝臓において酸化 DAG は酸化ストレスにより蓄積亢進することが知られている。HC 負荷により、雌性 SDT fatty ラットでは肝臓中に種々の脂質が蓄積し、また酸化ストレスの上昇も伴ったうえで病態が進行していることが示唆された。雌性 SDT fatty ラットの血中コリン濃度を測定した結果、HC 負荷によって、雌性 SDT fatty ラットの血中コリン値は上昇し、特に肝線維化が顕著になる 24 週齢において顕著な上昇が確認できた。血中コリン濃度はヒト NASH 患者でも上昇しており、NASH 肝線維化と関連が深いパラメータである可能性が考えられた。

第四章では、肥満 2 型糖尿病を背景とする NASH 患者に投薬されている薬剤として、ピオグリタゾンとメトホルミンを投薬しその効果について検証した。ピオグリタゾン投与群では、血中インスリン値の低下を伴った血糖値の正常化が確認でき、強力なインスリン抵抗性改善効果が確認できた。一方、ヒトで懸念されている作用の一つである体重増加作用も極めて顕著に認められた。肝臓中脂質蓄積への効果も顕著であり、トリグリセリド、総コレステロール、遊離脂肪酸、遊離コレステロールすべてがほぼ正常対照レベルとなっていた。肝臓病理組織学的評価の結果、ピオグリタゾン投与群では脂肪肝、肝炎、肝線維化のすべてが明らかに改善しており、その強力な薬理効果を確認できた。メトホルミン投与群では、血糖値の低下効果は有意で継続的であったが、肝脂質蓄積や肝臓病理組織学的評価においては一部の動物にのみ改善効果を認めるに留まり、明らかな改善効果は示さなかった。これらは、ヒト臨床試験結果と極めて類似した結果であり、本モデルは肥満 2 型糖尿病を背景とする NASH 病態をよく反映したモデルであると考えられた。

本研究で見出された HC 給餌雌性 SDT fatty ラットは、薬剤開発への利用のみならず、ヒト NASH 患者の肝線維化に関与する重要な因子を見出す研究ツールとしても高い価値を有すると思われる。本モデル動物について、複雑なヒト NASH 病態の解明に寄与するべく有用な研究ツールとして大いに期待したい。

#### 審査結果の要旨

本研究は、雌性 SDT fatty ラットの食事への脂質負荷による NASH 病態発症の早期化を血液生化学パラメータ、遺伝子解析、病理組織学的検査を利用して確認した上で、その薬剤開発における有用性を臨床で用いられている薬剤を用いて検討し、HC 給餌雌性 SDT fatty ラットが II 型糖尿病を背景疾患とするヒト NASH 患者の特徴を有したモデルであることを報告した。

NASH はいまだ治療薬が存在しない疾患で、その複雑な病態の詳細はいまだ解明されていない。本モデルは薬剤開発のみならず、ヒト NASH の病態解明に有用である可能性があり、今後の創薬活動に大きな寄与をする可能性が十分に考えられる。

これらの研究成果は、NAFLD/NASH における新規治療法の開発に本モデル動物が有用であることを示し、NASH 肝線維化に関与する分子機構を解明するための重要な学術的知見を提供している。

本研究の内容は、いずれもレフリーシステムの確立された学術雑誌に 3 件掲載されており、学術的価値が非常に高いと評価された。

よって、本論文は博士 (農学) の博士論文として十分であると認定した。