

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 後藤 諒
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 886 号
学位授与の日付 令和元年 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 Inhibition of sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) delays liver fibrosis in a medaka model of nonalcoholic steatohepatitis (NASH)
(SGLT2 阻害薬はメダカ NASH モデルにおいて肝の線維化を遅らせた)

論文審査委員 主査 教授 南野 徹
副査 教授 佐藤 昇
副査 准教授 高村 昌昭

博士論文の要旨

【背景と目的】非アルコール性脂肪肝炎(NASH)発症の危険因子として糖尿病や脂質異常症、高血圧、肥満、インスリン抵抗性などメタボリックシンドロームとその関連疾患が挙げられており、種々の糖尿病治療薬の NASH に対する有効性が報告されている。SGLT2 阻害薬は近位尿細管でのグルコースの再吸収を阻害する糖尿病治療薬で、インスリン抵抗性を改善する効果があり、NASH の 2 型糖尿病患者において血清トランスアミナーゼや FIB-4 index の改善が報告されている。これまで水生動物であるメダカを用いたヒト疾患治療薬の有効性評価が本邦を中心に行われており、申請者らはメダカに高脂肪食を投与した NASH モデルを作成し、SGLT2 阻害薬であるトホグリフロジン(TOFO)の NASH 進展抑制効果を検証した。

【方法】メダカは drR/Tokyo(近交系)を用いて実験を行った。ヒトの SGLT2 抗体を用いてメダカ腎臓の免疫染色を行い、ヒトと同様に SGLT2 が近位尿細管に発現していることを確認した。高脂肪食(HFD32)を 20 mg/day/body 投与した NASH 群と、HFD に加え TOFO を投与した TOFO 群とを比較した。TOFO の分量は、健康成人に通常投与量の 20mg を投与した際の Cmax 500 ng/mL と、水槽濃度が同じになるように設定した。投与開始後 4、8、12 週で体重、肝重量、肝酵素や血糖およびコレステロールと中性脂肪の血液生化学検査、肝組織内の脂肪量と線維化を HE 染色と Sirius Red 染色により比較検討し、TOFO の NASH に対する効果を検証した。

【結果】肉眼所見では、高脂肪食の投与により時間経過に伴い肝臓が白色調となり肥大していったが、TOFO 群では遅延していた。肝重量体重比も時間経過で増加していったが、4 週投与後では有意差を認めなかったものの、8 週および 12 週投与後では TOFO 群にて有意に上昇が抑制された(P<0.05)。肝臓の HE 染色では、週数の経過により脂肪滴が増加し、炎症性細胞や大滴性の脂肪沈着も認めた。肝組織内の脂肪組織量は Image J にて定量化し、8 週および 12 週投与後で TOFO 群にて脂肪組織量の上昇が有意に抑制された(P<0.05)。Sirius Red 染色で肝線維化を Image J にて定量化したところ、時間経過にて線維化も増加していったが、12 週投与後では TOFO 群にて有意に上昇が抑制された(P<0.05)。血液生化学検査では、

血糖値は4週ではTOFO群が有意に血糖の上昇が抑制されていた($P < 0.05$)が、8週以降は同等であった。ALTは、NASH群は4週で最大となり、その後は低下していった。これは肝障害でトランスアミナーゼを分泌する正常肝細胞が減少したためと考えられた。TOFO群ではNASH群よりゆっくり上昇し8週で最大となり、12週では低下しており、炎症のピークが遅延した。T-CHO及びTGはNASH群TOFO群ともに4週でコントロール群より大きく上昇していた。8週ではTOFO群の上昇が抑制されていたが、12週では同程度であった。

【考察と結論】NASHモデルマウスにおいてSGLT2阻害薬による肝組織の脂肪化の経時的変化や体重、血液生化学検査などの検討がなされているが、SGLT2阻害薬が食欲を刺激する影響か、体重は増加した報告や減少した報告などがあり一定ではなかった。メダカNASHモデルでは、SGLT2を水槽に投与することで薬物濃度をすべての個体で一定にできることが利点と考えられる。この実験の欠点としては、SGLT2阻害薬により尿中に糖が排出されるが、尿は水槽中に排泄されるためメダカが糖を再吸収する可能性があるということだが、メダカの尿量は水槽と比較し十分に少なく、水槽の水は2日に1回交換したため影響はほぼないと考えられる。結論としては、SGLT2阻害薬であるTOFOの投与が、メダカNASHモデルにおいて肝の脂肪化と線維化を抑制し、NASHの進展抑制に有用である可能性が示唆されるとともに、メダカNASHモデルがNASHに対する薬剤の効果検証に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肝炎(NASH)発症の危険因子として糖尿病や脂質異常症、高血圧、肥満、インスリン抵抗性などメタボリックシンドロームとその関連疾患が挙げられており、種々の糖尿病治療薬のNASHに対する有効性が報告されている。SGLT2阻害薬は近位尿細管でのグルコースの再吸収を阻害する糖尿病治療薬で、インスリン抵抗性を改善する効果があり、NASHの2型糖尿病患者において血清トランスアミナーゼやFIB-4 indexの改善が報告されている。これまで水生動物であるメダカを用いたヒト疾患治療薬の有効性評価が本邦を中心に行われており、申請者らはメダカに高脂肪食を投与したNASHモデルを作成し、SGLT2阻害薬であるトグリフロジン(TOFO)のNASH進展抑制効果を検証した。その結果、TOFOの投与によって高脂肪食負荷による肝組織の脂肪沈着や線維化などの所見が改善していた。血液検査では血糖やトランスアミナーゼの上昇が抑制されていた。以上より、SGLT2阻害薬であるTOFOの投与が、メダカNASHモデルにおいて肝の脂肪化と線維化を抑制し、NASHの進展抑制に有用である可能性が示唆されるとともに、メダカNASHモデルがNASHに対する薬剤の効果検証に有用である可能性が示唆された。本研究は、NASHに対する薬物治療の確立に資するデータを明確に示した点で、臨床医学的意義は高く、学位論文としての価値を認める。