

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 小島 高

アルカリフォスファターゼ(ALP)は全身の臓器に存在する酵素であり、犬の血中では主に肝臓由来の Liver ALP (LALP)、ステロイドホルモンによって誘導され犬に特異的な Corticosteroid-induced ALP(CALP)の 2 種類のアイソザイムが検出される。また脂質蓄積やグルココルチコイド投与に伴うグリコーゲン蓄積が原因となる肝空胞変性の症例では高 ALP 血症を呈する症例が多い。しかし肝空胞変性の原因と ALP アイソザイムの関係についてはまだ十分に検討されていない。

第 1 章 肝胆道系疾患犬における ALP アイソザイムの解析

犬の血中 CALP は内因性、外因性のグルココルチコイドの影響で上昇するが、肝胆道系疾患との関連に関しては報告が乏しい。そこで第 1 章ではグルココルチコイド投与歴のない肝胆道系疾患の犬での血中 ALP アイソザイム活性と分画を調査した。

その結果、慢性肝炎や肝細胞腺腫、結節性過形成では健常犬群より有意に血中 CALP 活性が上昇しており、空胞性肝障害の 3 症例全てで CALP 分画が 80%以上を占めていた。血中コルチゾール値と CALP 活性や分画とは有意な関連性は認めなかった。この結果は CALP が内因性・外因性のグルココルチコイド以外の要因でも上昇することを示唆し、またグリコーゲン以外の蓄積物による空胞変性でも CALP が誘導されうることが示唆された。

第 2 章 肝胆道系疾患の犬における脂質およびグリコーゲンの蓄積と肝空胞変性の病態解析および脂質代謝関連遺伝子の発現解析

第 1 章でさまざまな肝胆道系疾患で CALP の上昇が確認された。一方過去の報告では、犬の先天性門脈体循環シャントや結節性過形成の一部で肝臓内脂質蓄積が指摘され、グルココルチコイド投与に伴うグリコーゲン量増加も報告されている。しかし肝胆道系疾患症例において脂質やグリコーゲン蓄積を網羅的に調査した報告はない。そこで第 2 章では肝胆道系疾患症例で肝臓中脂質・グリコーゲン量を定量し、空胞変性の重症度および ALP アイソザイムとの比較を行い、脂質代謝関連遺伝子の発現を肝臓中脂質量と比較した。

その結果、慢性肝炎や肝細胞癌の非腫瘍部分で健常群より有意に多くの脂質が蓄積し、その他の症例でも健常犬より重篤な脂質蓄積が存在した。グリコーゲン量は疾患群で有意な差は認めら

れなかった。空胞変性の重症度や ALP アイソザイム分画と脂質・グリコーゲン量の間に関連関係は認めなかった。しかし、脂質蓄積量が過剰だった群ではより高い CALP 分画や活性を示す傾向にあり、グルココルチコイドの影響以外にも肝脂質の過剰蓄積が CALP 上昇の背景にあることが示唆された。

また、脂質代謝関連遺伝子の発現解析の結果、肝胆道系疾患の犬では肝細胞への脂質の取り込みおよび脂質合成が亢進し、過剰な脂質蓄積が誘発されることが示唆された。

第 3 章 実験犬における脂肪乳剤の投与による肝脂質蓄積の誘導に伴う血中 ALP および肝臓の脂質代謝関連遺伝子の発現解析

第 2 章での脂質過剰蓄積例はいずれも肝胆道系疾患の症例であり、脂質蓄積のみ認められた場合の血中 ALP アイソザイムを検討した報告はない。そこで第 3 章では脂肪乳剤投与によって肝臓内脂肪蓄積を実験的に誘導し、その際の血中 ALP アイソザイム、脂質代謝関連遺伝子の変化について解析を行った。

脂肪乳剤の投与後、4 頭全てで重篤な空胞変性と肝細胞腫大を認め、4 頭中 2 頭で肝臓中脂質の増加を認めた。また全頭で総 ALP 活性および各 ALP アイソザイム活性の経時的な上昇を認め、18 日目において LALP 発現の上昇が認められた。CALP 発現は 5 日目に脂質の蓄積した 2 例での上昇が認められ、肝脂質蓄積が CALP 上昇に関わる可能性を示唆した。

また 5 日目において全頭で脂質合成を制御する転写因子 PPAR γ の発現が亢進しており、脂肪乳剤の投与により、犬の肝臓では脂質合成が亢進することが示唆された。

総括

一連の研究で犬での CALP 上昇機序について新たな知見が示された。これまでグルココルチコイドが犬の CALP 上昇の原因とされてきたが、肝胆道系疾患の犬でグルココルチコイド投与に関わらず血中 CALP が上昇していることが第 1 章で明らかになり、第 2 章と第 3 章で、その原因の少なくとも一部に肝内の脂質蓄積が関与していることが示された。

肝臓の脂肪蓄積も従来よりも広範に存在することが明らかになり、特に肝炎や肝細胞癌の症例で脂質蓄積が有意に高いことや、脂質蓄積例や脂肪乳剤を投与した犬で認められた脂質代謝関連遺伝子の発現亢進はヒトの脂肪肝でも認められており、比較病態の観点からも興味深い知見と考えられた。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。