

審査の結果の要旨

氏名 奥新 和也

本研究は、本邦を含む世界中で急増する脂肪性肝疾患と、代謝中枢への関与が示されてきている胆汁酸代謝の関連についてヒト肝生検検体とマウスモデルの双方を用いて検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 当院消化器内科で2011年11月から2014年6月の間に経皮的肝生検を施行し病理学的にNAFLDと診断された症例、男性49名、女性29名の肝組織を用いて、NAFLD activity score (NAS)で評価した病理学的な進行度と、定量的PCRと免疫染色を用いて評価した胆汁酸代謝に関連する分子の肝内遺伝子発現の相関について検討を行った。胆汁酸の核内受容体 farnesoid X receptor (FXR)やその下流で作用する small heterodimer partner(SHP) や liver receptor homolog 1 (LRH1)、そして胆汁酸合成の律速酵素 cholesterol 7 alpha-hydroxylase (CYP7A1)の発現を定量的PCRで評価した。その結果、FXRとLRH1は女性で、SHPは男性でNASと有意な負の相関を認めた。しかしながら、律速酵素であるCYP7A1は男女共にNASとの間に明らかな傾向を示さなかった。
2. 胆汁酸の肝細胞からの排出を司る bile salt export pump (BSEP、ABCB11)と multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2、ABCC2)、そして胆汁酸の肝細胞内への取り込みを行う Na+/taurocholate cotransporter (NTCP、SLC10A1)の発現について定量的PCRで評価した。その結果、BSEPとNTCPの遺伝子発現は男女ともにNASと有意な負の相関を示し、MRP2も女性で有意な負の相関を認めた。特に胆汁酸排出のメイントランスポーターであるBSEPはNASの各要素 (steatosis、lobular inflammation、hepatocellular ballooning) とも有意な負の相関を示していた。一方で、細胞傷害の結果とも言える肝線維化の進行度とは明らかな相関を示さなかった。そこで、タンパクレベルでの発現変化についても免疫染色で評価し、NASが高い症例において、BSEPの発現が特に脂肪化の強い領域で低下していることが確認できた。
3. このBSEPの発現低下による機能不全がNAFLDの病態進行、つまりNASHの病因の一つとして作用しているのではないかと仮説を立て、マウスモデルでの発現抑制によりNAFLD進行・NASH発症につながるような遺伝子発現の変化が生じるか検討を行った。野生型マウスC57BL/6Jのオス16週齢を用いて生体内でBSEPの発現を一週間抑制するモデルを確立し、高脂肪食負荷と併せて胆汁酸代謝そしてその上流にあるコレステロール代謝に及ぼす影響を検討した。生体内BSEP発現抑制にはげっ歯類のBsepに特異的な small interfering RNA (siRNA)を使用し、高脂肪食としては動物性脂肪由来栄養が

14.4 %含有される飼料を自由摂取させた。その結果、通常食摂取下では、BSEP 発現抑制により Mrp2 の発現上昇、Cyp7a1 の発現低下が認められた。これらは BSEP 発現抑制による胆汁酸の排出障害を代償する機構が正常に作用していることを示していた。コレステロール輸送については、排出を司る ATP-binding cassette sub-family G member 5・ATP-binding cassette sub-family G member 8 の発現が BSEP 発現抑制により上昇していた。しかし、コレステロールの細胞内への取り込みを行う low-density lipoprotein receptor も発現上昇していた。この変化はコレステロールから胆汁酸へと変換する経路が停滞し肝細胞内コレステロール過剰が予想される中で奇異な変化であると考えられた。

4. 一方で、高脂肪食摂取下では、通常食摂取下と同様の変化は確認できず negative control 群と siRNA 群で Cyp7a1 を除いて明らかな変化がなかった。これは高脂肪食摂取という代謝系への負荷がかかっている状況下では、BSEP の発現低下に対する正常な代償機構が機能できなくなっている可能性を示唆していた。これらの結果から高脂肪食負荷と BSEP 発現低下という両因子の合併が肝細胞内での恒常性の破綻を引き起こすことが確認できた。

以上、脂肪性肝疾患の病態進行と胆汁酸代謝、特に胆汁酸排出型トランスポーターBSEP の関連について明らかとした。脂肪性肝疾患の病態解明に貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。