

学位論文要旨

氏名 中村由子

論文名 B細胞活性化因子の非アルコール性脂肪性肝疾患モデルマウスにおける肝脂肪化への影響

学位論文要旨

【背景と目的】

肥満に起因する脂肪組織の機能変化は、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の病態形成に重要であり、インスリン抵抗性の原因の一つであることが示唆されている。B細胞活性化因子 (BAFF) は、B細胞の分化・生存を促進する tumor necrosis factor (TNF) リガンドファミリーの一つであり、自己免疫性疾患の進展に関与することが知られている。申請者らの教室では、BAFF が骨髄系細胞や活性化 T細胞のみならず成熟脂肪細胞からも産出されることや、BAFF がアディポカイン分泌やインスリンシグナルを障害させインスリン抵抗性を惹起することを報告した。さらに、BAFF が NAFLD の重症度と正の相関があることも報告した。しかし、BAFF の NAFLD の病態形成における機序はまだ明らかではない。

本研究は、BAFF 欠損マウスを用いて、BAFF のインスリン抵抗性、脂肪組織の機能変化、肝脂肪化への影響など、BAFF の NAFLD 病態への関連を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

1. オス C57BL6/J (WT) 並びに B6.129S2-Tnfsf13b^{tm1Msc/J} (BAFF 欠損) マウスを、6 週齢から通常食 (13%脂肪; 360 kcal/100g) もしくは高脂肪食 (60%脂肪; 520kcal/100g) で 24 週間飼育し、体重の推移と各臓器の重量比を算出した。本動物実験は、愛媛大学大学院医学系研究科等遺伝子組換え実験安全委員会及び愛媛大学動物実験倫理委員会によって承認されている(承認番号 05TI70-16)。
2. 糖代謝への影響を検討するため、16 時間絶食後に腹腔内ブドウ糖 (1.5 mg/g) 並びにインスリン (1 U/kg) 負荷試験を施行した。
3. 内臓脂肪の炎症を検討するため、肥満マウスの精巣上体周囲脂肪組織の crown-like structure (CLS) 数を比較した。炎症に関する遺伝子発現をリアルタイム RT-PCR で、また浸潤する間質細胞における CD11c 陽性 F4/80 陽性マクロファージの割合をフローサイトメトリーで解析した。

氏名 中村 由子

4. 内臓脂肪の線維化評価目的で、H&E 染色像から脂肪細胞の大きさと、Sirius red 染色像から陽性割合を Image J を用いて解析した。内臓脂肪組織中のコラーゲン含有量と、線維化関連遺伝子の mRNA 発現をリアルタイム RT-PCR で評価した。
5. 肝脂肪化を組織像と肝内の中性脂肪・総コレステロール含有量で検討した。また肝臓での脂肪合成や炎症・線維化に関する遺伝子発現をリアルタイム RT-PCR およびウエスタンブロット法で評価した。
6. 肝細胞での脂肪合成を検討する目的で、高脂肪食摂取マウス初代肝細胞を単離し、遺伝子発現をリアルタイム RT-PCR で検討した。次に初代肝細胞にパルミチン酸添加後 Sudan III 染色と肝細胞内の中性脂肪含量を検出し、脂肪合成量を検討した。

【結果と考察】

1. BAFF 欠損マウスは、通常食群では WT マウスと体重差を認めなかったが、高脂肪食群で WT と比較して有意な体重増加をきたした。特に内臓脂肪重量の体重に占める割合が増加した。その反面、肝重量割合は有意に低下した。
2. 通常食群の BAFF 欠損マウスは、耐糖能・インスリン感受性に WT と差はなかった。しかし、高脂肪食群の BAFF 欠損マウスは、WT マウスに比し体重増加にも関わらず有意な耐糖能およびインスリン感受性の改善がみられた。
3. 高脂肪食群の BAFF 欠損マウスは、内臓脂肪の CLS 形成が有意に減少していた。また浸潤するマクロファージに占める CD11c 陽性細胞の割合が少なく、炎症に関する遺伝子発現も低下していた。
4. 高脂肪食群の BAFF 欠損マウスの内臓脂肪細胞径は WT と比較すると有意に肥大化していた。また、Sirius red 染色陽性面積とコラーゲン含有量はいずれも低下していた。
5. 高脂肪食群の BAFF 欠損マウスは肝臓の脂肪沈着低下がみられ、中性脂肪・総コレステロール含量も低下していた。また、脂肪合成や炎症・線維化に関する遺伝子発現は WT と比較して有意に低下した。
6. 高脂肪食で飼育した BAFF 欠損マウスの初代肝細胞は脂肪合成に関する遺伝子発現が WT マウスと比べて有意に低下していた。またパルミチン酸添加後の BAFF 欠損マウス初代肝細胞内の中性脂肪含量は WT と比較して有意に減少していた。

【結論】

BAFF はインスリン抵抗性の増悪に加え、内臓脂肪組織の炎症・線維化を惹起することで、内臓脂肪組織の脂肪蓄積能を減少させ、肝異所性脂肪沈着を増悪させる。BAFF は、NAFLD およびそれに関連する耐糖能異常の治療標的となりうると考えられた。

キーワード (3~5)	B細胞活性化因子 非アルコール性脂肪性肝疾患 肝脂肪化 耐糖能障害
-------------	--