

(第7号様式)

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	中村 由子
審査委員	主査 大澤 春彦 副査 山下 政克 副査 田内 久道 副査 鍋加 浩明 副査 越智 雅之

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

### 審査結果の要旨

#### 背景

肥満に起因する脂肪組織の機能的変化は、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の病態形成に重要である。また、インスリン抵抗性の成因の一つとして注目されている。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として、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、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てきた。さらに、BAFFがNAFLDの重症度と正に関連することを示した。しかしながら、これまでにNAFLDの病態形成におけるBAFFの意義は明らかにされていない。

#### 目的

そこで本研究では、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、肝脂肪化における意義、NAFLD病態への関連を解明することを目的とした。

#### 方法

オス C57BL6/J (WT) 並びに B6.129S2-Tnfsf13b<sup>tm1Msc</sup>/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比較した。糖代謝への影響を、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) 負荷試験により解析した。

内臓脂肪の炎症を精巢上体周囲脂肪組織の crown-like structure (CLS) の数、炎症関連遺伝子の mRNA を RT-PCR、浸潤する 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により解析した。内臓脂肪の線維化は、組織像、コラーゲン含有量、線維化関連遺伝子の mRNA で評価した。肝脂肪化を組織像、肝内の中性脂肪・総コレステロール含有量で評価した。肝臓での脂肪合成や炎症・線維化に関する遺伝子発現を RT-PCR 及びウエスタンブロット法で解析した。高脂肪食摂取マウス初代肝細胞を単離し、肝細胞での脂肪合成関連遺伝子の mRNA を RT-PCR で解析した。初代肝細胞にパルミチン酸添加後、SudanIII染色と肝細胞内の中性脂肪含量により、脂肪合成量を評価した。

## 結果

高脂肪食群において、BAFF 欠損マウスは、WT と比較して体重が増加した。内臓脂肪重量/総体重割合が増加する一方、肝重量割合は低下した。高脂肪食群の BAFF 欠損マウスにおいて、耐糖能およびインスリン感受性が改善した。これらについて、通常食群では BAFF 欠損マウスと WT に差はなかった。

高脂肪食群の BAFF 欠損マウスにおいて、内臓脂肪の CLS 形成が低下した。浸潤するマクロファージに占める CD11c 陽性細胞の割合、炎症関連遺伝子の発現はいずれも低下した。

高脂肪食群の BAFF 欠損マウスにおいて、内臓脂肪細胞径は WT と比較すると大きかった。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た。

高脂肪食群の BAFF 欠損マウスにおいて、肝臓の脂肪沈着ならびに中性脂肪・総コレステロール含量が低下した。脂肪合成や炎症・線維化に関する遺伝子の発現は WT と比較して低下した。

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 マウスと比し低かった。パルミチン酸添加後の肝細胞内中性脂肪含量は WT と比し低下した。

## 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促進することが示された。BAFF は、NAFLD 及びそれに関連する耐糖能異常の治療標的となりうることが想定された。

本論文の公開審査会は、令和元年 8 月 23 日に開催された。申請者は、本研究の意義と内容について英語で明確に発表した。各審査員からは、BAFF の自己免疫疾患等における病態生理学的意義、BAFF KO の生命予後への影響、他の BAFF 受容体 (BAFF-R) KO マウス研究との相違の解釈、免疫系への影響、BAFF の primary target について、BAFF-R の脂肪・肝細胞での発現、脂肪酸の BAFF 発現への影響、肝臓と脂肪組織における炎症、繊維化の違い等についての広範に渡る質問がなされた。申請者は、これらに対し、いずれにも的確に回答した。審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。