

学位論文審査結果の要旨

氏名	花山 雅一
審査委員	主査 今村 健志 副査 北澤 荘平 副査 小川 晃平 副査 平井 洋生 副査 吉田 素平

論文名 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) では腸管におけるパルミチン酸の吸収が亢進し、吸収されたパルミチン酸は肝線維化に影響する
審査結果の要旨

【背景と目的】

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は、非アルコール性脂肪肝 (NAFL) とともに非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) として分類される慢性肝疾患で、近年患者数が増加している。NASH は肝線維化を介して、肝硬変から肝細胞がんに進展する場合も多いが、その病因・病態は不明な点が多く、根治的治療法も確立されていない。申請者らは、これまでに NASH 患者においてパルミチン酸 (PA) の腸管での吸収が亢進していることを明らかにしてきた。さらに PA の吸収経路が、リンパ流を介さず門脈から直接肝臓へ流入する新経路である可能性を示唆してきた。そこで、NASH の病態解明と新たな治療戦略の提案を目的に、ヒト検体で血中の脂肪酸分画を解析し、さらに NASH のモデルラットを作製し、肝臓に直接流入する血中 PA の動態を明らかにし、PA が肝臓の線維化に及ぼす影響を解析した。

【材料と方法】

NASH 患者 41 人と健常人 39 人を対象に、空腹時と食後 2 時間後に採血を行い、血中の脂肪酸分画をガスクロマトグラフィーで測定した。8 週齢の Sprague Dawley ラットに高脂肪食を摂取させた NAFL モデルラットと、高脂肪高コレステロール食を摂取させた NASH モデルラットを準備し、十二指腸留置カニューレからエマルジョン化した PA を持続的に注入、門脈留置カ

ニューレから経時的に採血を行い、腸管における長鎖脂肪酸吸収を反映する因子であるカイロミクロン(CM)の血液中の粒子数やPA濃度をゲル濾過高速液体クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィーを用いて計測した。さらに、モデルラットの腸管・肝臓組織を採取し、脂肪酸吸収あるいは肝線維化に関連する細胞内分子をreal-time RT-PCR法、Western blotting法を用いて解析した。また正常ラットの肝臓へPA溶液を注入し、注入24時間後に肝臓組織を採取し、肝線維化に関連する細胞内分子をreal-time RT-PCR法、免疫染色で評価した。臨床研究は愛媛大学倫理委員会によって、動物実験は愛媛大学動物実験委員会によって承認されている。

【結果】

NASH患者では対照者と比較して食後の血中PA濃度が上昇していた。NASHラットでは食後の血中のCM粒子数、CM内含有トリグリセリド濃度、血中PA濃度が上昇することが確認された。また、空腸の組織学的検討では、CD36やMicrosomal triglyceride transfer protein (MTP)等の発現が増加していた。正常ラットの肝臓へのPA溶液注入実験の結果、 α -SMA、TGF- β 、collagen 1a1などの遺伝子の発現増加がみられた。

【考察・結論】

ヒト検体の解析の結果、NASH患者では腸管におけるPA吸収が増加している可能性が示唆された。動物実験の結果、NASHラットでは、食後の血中PA濃度が上昇し、空腸組織解析から、腸管腔から腸細胞内への長鎖脂肪酸の取り込みに関連するCD36と腸細胞の小胞体内でCM形成に関与するMTPの発現が増加することにより、食餌性PAの腸管吸収が亢進し、直接肝臓に流入している可能性が示唆された。また、PAは肝星細胞の活性化や肝線維化関連遺伝子の発現増加を誘導することから、腸管におけるPAの吸収増加と直接肝臓に流入するPA増加は、肝線維化を進行させ、NASHの病態形成と進展に重要な役割を果たすことが示された。

本論文は、NASH患者で食後の血中PA濃度の上昇、動物実験でPAの吸収増加がNASHの病態形成と進展に与える影響を明らかにし、腸管でのPA吸収の制御がNASHの新たな治療法の開発に繋がる可能性を示唆したものであり、明瞭な結果と十分な考察が提示されている。公開審査会は、令和4年2月2日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表し、1) PAに着目した理由について、2) 対象患者から糖尿病を除外した理由について、3) インスリン抵抗性との関連を含めPAが増加した患者の背景について、4) 得られたデータの解析方法の詳細について、5) 用いたモデル動物の特性について、6) PAの吸収・循環メカニズムの詳細について、7) モデルラットでの線維化のメカニズムについて、8) 肝硬変に移行する臨界点、病態の悪性サイクルなど臨床との関連の詳細について、9) 血液検査による診断や阻害剤等による臨床応用についてなど、実験方法、分子メカニズムから臨床応用に関してまで幅広く多くの質問に対し日本語で的確に応答した。

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。