

学位論文審査結果の要旨

| 氏名 | 兼光 梢 |
|------|-----------|
| 審査委員 | 主査 今村 健志 |
| | 副査 高田 泰次 |
| | 副査 末盛 浩一郎 |
| | 副査 村上 正基 |
| | 副査 濱田 淳平 |

論文名

非アルコール性脂肪肝炎の肝線維化における B 細胞活性化因子の役割

審査結果の要旨

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) / 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は全世界で急増しているが、現状では有効な治療法は無く、その治療法の確立は急務である。これまで申請者のグループでは、NAFLD/NASH の肝線維化に関して、B 細胞活性化因子 (BAFF) に着目して研究を進め、ヒト血清 BAFF が NAFLD 患者の重症度と相関することや高脂肪食誘導肥満マウスの血清 BAFF 濃度が上昇することを明らかにした。さらに、BAFF 欠損マウスにおいて誘導される肝脂肪化が軽減していることを明らかにしてきたが、このモデルマウスでは、肝組織での炎症所見や線維化の所見が乏しく、ヒトの組織所見を全て反映していないために、線維化における BAFF の関与とそのメカニズムを解析することは難しかった。そこで、本研究では、肝臓の炎症と線維化を反映する新規 NASH モデルマウスを開発し、肝線維化の過程における BAFF の役割とその分子メカニズムを明らかにする目的で研究を行なった。

具体的には、6 週齢オスの C57BL6/J (WT マウス) と B6.129S2-Tnfsf13btm1Msc/J (BAFF 欠損マウス) に高脂肪高コレステロール食を与えて飼育し、9 週齢になってから 4 週間、四塩化炭素 CCL4 の腹腔内注射を行い、13 週齢で血清と肝臓組織を採取し、解析した。その結果、新規 NASH モデルマウスは肝臓組織で広範囲脂肪化と強い炎症を伴った線維化を認め、組織学

的にヒト NASH と類似の特徴を示した。BAFF 欠損モデルマウスでは WT モデルマウスに比べ、血清 AST と ALT の値が低く、肝組織における肝脂肪沈着が著明に減少し、肝内中性脂肪・コレステロール含量も減少していた。

より詳細なメカニズムを明らかにするために、肝組織において crown-like structure (CLS) 数を算出したところ、BAFF 欠損モデルマウスでは WT モデルマウスに比べ CLS 形成が減少しており、脂肪蓄積により細胞死に陥る肝実質細胞が減少していることを示唆した。また、浸潤マクロファージに占める CD11c 陽性細胞の割合が少なく、肝組織内の iNOS 陽性マクロファージ数も低下していた。さらに、TNF α や MCP-1 等の炎症関連遺伝子の発現も低下していた。

in vitro でマウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 細胞に BAFF を添加すると、NF- κ B non-canonical 経路が活性化し、TGF- β 1 や iNOS 等の遺伝子発現が増加し、BAFF 受容体 Fc キメラの添加によりその発現は低下した。さらに、RAW264.7 細胞を BAFF と LPS で刺激した培養上清を、C57BL6/J マウスから単離した肝星細胞に作用させると、LPS のみの培養上清に比べて TGF- β 1 や α SMA 等の発現が増加した。ELISA により BAFF+LPS を添加した培養上清中の NO と TNF α 濃度は LPS のみの培養上清より有意に高いことを確認した。

以上の結果から、BAFF はマクロファージを活性化し、NO や TNF α 等の炎症性サイトカインの産生を介して肝星細胞を活性化することで肝線維化に寄与し、BAFF は NASH の治療標的になりうることを結論づけた。なお本研究の動物実験は、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）。

本論文では、組織学的にヒト NASH と類似した表現型を示す新規 NASH モデルマウスを開発し、BAFF 欠損マウスの解析から、肝線維化における BAFF の関与とその分子メカニズムを明らかにした。未だ有効な治療法がない NASH において BAFF が治療標的になりうることを明らかにし、その臨床応用が期待される。

公開審査会は、令和 4 年 1 2 月 2 1 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した後、審査員から本研究に関する以下の質問がなされた。

- 1) NASH について脂肪滴沈着から線維化まで病態の時間変化から NASH 患者が増えた理由
- 2) 新規モデルマウスに関してヒト NASH 病態との関連から CCL4 の役割などの実験の詳細
- 3) BAFF について生体での機能、マクロファージ以外への作用から抑制剤の開発状況
- 4) BAFF 欠損マウスについてインスリン抵抗性を含めた詳細な表現型

以上、技術開発、検証方法、病態メカニズムの解析から臨床応用展開に関してまで幅広く多くの質問に対し、日本語で的確に回答した。

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。