HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Anti-adipogenic and anti-viral effects of L-carnitine on hepatitis C virus infection [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	佃, 曜子
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第11677号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/58954
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号：2159
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yoko_Tsukuda_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　佃　曜子

審査担当者
主査　教授　清野　研一郎
副査　教授　坂本　直哉
副査　教授　西村　正治
副査　教授　有賀　正

学 位 論 文 題 名

Anti-adipogenic and anti-viral effects of L-carnitine
on hepatitis C virus infection
（L-カルニチンのC型肝炎ウイルス増殖抑制効果に関する研究）

C型肝炎ウイルス（HCV）は慢性肝疾患・肝癌の原因となるウイルスである。抗ウイルス療法として従来の PEG-インターフェロン＋リバビリン併用療法に加え、近年direct-acting antivirals(DAA)と呼ばれるウイルスタンパクを直接標的とする治療薬が開発され、良好なウイルス排除率が得られている。しかしDAAsは日本では非代償性肝硬変に未承認であり、薬剤耐性ウイルスの問題もあり、HCVに対する新たな治療や補助療法の研究が求められる。

HCV コアタンパクにより肝細胞内脂肪滴の過形成が誘導されることが報告されており、脂肪肝はC型慢性肝炎の特徴的な病理組織像である。脂肪肝はインスリン抵抗性の増加・肝線維化・酸化ストレス増加・肝発癌の危険因子となる。また、HCVのウイルス粒子形成は脂肪滴の周辺で行われることが報告されており、HCV感染肝細胞の脂肪滴をコントロールすることが HCV 増殖抑制ならびに患者の予後改善に寄与する可能性がある。申請者は、脂肪酸のβ酸化において重要な役割を果たす L-カルニチン（以下カルニチン）に着目した。L-カルニチンは非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）において肝脂肪化を改善することが報告されており、HCV感染患者においても肝脂肪化を改善させることができると仮説を立てた。

まず、HCV のゲノム RNA 複製に対するカルニチンの影響を検討するために、HCVレプリコン細胞にカルニチンを投与したが、カルニチン単独での HCV レプリコン細胞に対する抗ウイルス効果は認められず、カルニチンはHCV-RNAの複製には影響を及ぼさないものと思われた。次に、HCVゲノムの全長RNAをHuh7.5.1細胞にトランスフ

ェクションしたHCV感染培養系(以下HCVcc)に対するカルニチンの影響を検討した。その結果、カルニチンは濃度依存性に抗HCV効果を示した。次に、HCVccにカルニチンを投与してOil Red O染色を用いた細胞内脂肪滴の定量を行ったところ、カルニチンは濃度依存性に細胞内脂肪滴を減少させた。免疫蛍光染色の検討では、HCVccでは細胞内に多数の脂肪滴を認めたが、カルニチン投与により脂肪滴の数・サイズが減少しているのが認められた。これらの実験により、カルニチンが細胞内脂肪滴を減少させたことでウイルス粒子形成が妨げられ抗 HCV 効果を発揮した可能性が示唆された。細胞のタンパクを用いたWestern Blottingでは、カルニチンはHCV感染細胞においてβ酸化の律速酵素である CPT-I の発現を亢進させており、カルニチンの抗脂肪化効果は CPT-I の発現亢進が一因と考えられた。

カルニチンは肝臓以外の他臓器で抗酸化効果を示すことが報告されており、HCVccにおける作用を検討したところ、カルニチンは HCVcc に対して抗酸化効果を示すことが認められた。

以上より、カルニチンは HCVcc において抗ウイルス効果・抗脂肪化効果・抗酸化効果を示し、臨床的に大きな副作用もない薬物であることからC型慢性肝炎～肝硬変の患者において補助的な治療として有用であると思われた。

審査にあたり、まず副査の有賀教授から、今回の検討に用いたカルニチンの濃度（0～5,000μM）について臨床的に適切であるかという質問があり、申請者は、成人男性の生理的血清濃度は50μMであり製剤を内服しても血清濃度は200μM程度までしか上昇しないが、今回はあくまでin vitroでの抗ウイルス効果を検討する実験であると説明した。副査の西村教授からは、今回提示したデータだけではカルニチンの HCVcc に対する抗ウイルス効果・抗脂肪化効果・抗酸化効果がそれぞれどのように関与し合っているのかを十分説明し得るものではないと指摘がされた。これに対し申請者は、論理を補完するための追加実験を行う必要性があり、その例として免疫蛍光染色にてウイルスタンパクと細胞内脂肪滴の共局在に対するカルニチンの影響を検討することについて解答した。また、副査の坂本教授からは、カルニチンは今後臨床においてどのような位置づけの薬剤となるかと質問があり、申請者は、カルニチンの抗HCV効果はDAAsと比較すると弱いものであるが、その抗脂肪化効果・抗酸化効果によりDAAsの恩恵を受けられない耐性ウイルスキャリア患者や非代償性肝硬変患者において他の薬剤と併用することにより補助的治療薬として有用であると回答した。最後に、主査の清野教授から、免疫蛍光染色の画像上での細胞内脂肪滴の減少度と、Oil Red O染色を用いた脂肪滴定量の結果に乖離がある点が指摘された。申請者は、免疫蛍光染色の画像を解析ソフトを用いてより客観的に脂肪滴の定量を行う必要性があると回答した。

この論文はウイルス学の学術雑誌に投稿中であり、カルニチンの臨床応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。