



|                     |   |
|---------------------|---|
| Title               | ラットにおける12 $\alpha$ 水酸化胆汁酸による肝脂質蓄積と血圧上昇との関連に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]  |
| Author(s)           | 下田, 智子  |
| Degree Grantor      | 北海道大学   |
| Degree Name         | 博士(農学)  |
| Dissertation Number | 甲第15290号  |
| Issue Date          | 2023-03-23  |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/89409">https://hdl.handle.net/2115/89409</a>                       |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a> |
| Type                | doctoral thesis   |
| File Information    | Shimoda_Tomoko_abstract.pdf, 論文内容の要旨  |



# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称： 博士（農学）

氏名 下田 智子

## 学位論文題名

### ラットにおける $12\alpha$ 水酸化胆汁酸による 肝脂質蓄積と血圧上昇との関連に関する研究

脂肪肝が代謝異常により引き起こされることを明確にした代謝異常関連脂肪肝疾患 (MAFLD) は、腎機能障害や心血管疾患のリスクの予測因子となり、それに関わる代謝物の解析は脂肪肝の予防に重要な情報を提供すると考えられる。これまでに、高脂肪食を摂取したラットでは、胆汁を介する  $12\alpha$  水酸化胆汁酸 ( $12\alpha\text{OH BA}$ ) の分泌が増加し、その糞便排泄はエネルギー摂取量を反映することが明らかにされた。さらに、肝臓、門脈血漿、および糞における  $12\alpha\text{OH BA}$  濃度と肝脂質蓄積との間には有意な正の相関が認められた。肝臓で合成される一次  $12\alpha\text{OH BA}$  であるコール酸 (CA) をラットに与える実験を行ったところ、飼料への CA 添加量を  $0.5 \text{ g/kg}$  とすることで、高脂肪食摂取で観察されるような体内の胆汁酸代謝を再現できることを見出した。この条件で十数週間飼育すると、炎症や繊維化を伴わない肝脂質蓄積、血漿トランスアミナーゼ活性の増加、血漿アディポネクチン濃度の低下、消化管における物質透過性の亢進など、非感染性疾患で観察される様々な症状を誘導した。この時に肥満が生じないことから、非肥満型の初期脂肪肝モデルと考えることができる。非感染性疾患では脂質代謝と血圧との関連が示されていることから、本研究では  $12\alpha\text{OH BA}$  による脂質代謝と血圧との関連を検討した。

#### 1. Wistar ラットと WKAH ラットにおける肝脂質蓄積の変動係数 (CV) 評価

近交系動物は薬理学や栄養学等の広い研究分野で用いられているものの、近交系と非近交系動物間の生物学的指標の変動に関して検討している報告は少ない。そこで、非近交系 Wistar ラットと Wistar ラットに由来する近交系である WKAH ラットを用いて体重、肝臓重量、肝臓中の中性脂質 (TG) およびコレステロール (Chol) 濃度と血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ活性 (ALT) の CV を比較し、実験的再現性を検討した。その結果、体重と肝臓重量の CV に差は認めなかったが、肝 TG および肝 Chol と血漿 ALT の CV は、Wistar ラットでは  $30\sim 40\%$  である一方、WKAH ラットでは  $10\sim 25\%$  と低い値に収まることを見出した。さらに、これら CV 値は実験期間の長さに影響を受けないことが示された。したがって、肝脂質蓄積の評価に関しては非近交系よりも近交系ラットを使用する有用性が示された。

## 2. コール酸添加食摂取ラットにおける肝脂質蓄積は血圧上昇を伴う

肝臓の脂質蓄積は非感染性疾患の中でも早期に生ずる症状と考えられており、糖尿病や高血圧などの発症リスクを上昇させることが知られている。そこで、前述の CA 添加食摂取ラットを用いて、肝脂質蓄積と血圧上昇との関係を検討した。WKAH ラットを 2 群に分け、AIN-93 に準拠した食餌または CA 添加食 (0.5 g CA /kg 飼料) を 13 週間与えた。試験開始から 12 週間後に CA 群において収縮期血圧および拡張期血圧の増加と肝脂質濃度が増加した。これまでに肝臓における脂質蓄積は試験開始 1 週間後には観察されることから、肝脂質蓄積の亢進が血圧の上昇より早い時期に生じることが示された。レニン-アンジオテンシン系の遺伝子発現や血中ナトリウム濃度に群間差はなかったことから、CA による血圧上昇にこれらの関与は考え難い。一方、尿中アルブミン濃度は CA 群で高値を示した。また、肝臓中の 4 $\beta$ -ヒドロキシコレステロールや  $\beta$ -エポキシコレステロールおよびフルクトースの濃度と血圧との間に有意な正の相関が観察されたことから、酸化コレステロール産生およびポリオール経路の亢進がこの血圧上昇に関与する可能性が推察された。これらのことから、摂取エネルギーが増加すると分泌が増える 12 $\alpha$ OH BA そのものが、血圧の上昇や尿中アルブミン排泄の増加に関わることが示され、MAFLD と血圧上昇および腎機能障害を結びつける因子として 12 $\alpha$ OH BA の関与が示唆された。

本研究により、肝臓における TG の変動係数が低値に収まる近交系動物を用いることで脂質代謝の変動を鋭敏に検出できることが見出された。また、近交系ラットを用いた実験において、12 $\alpha$ OH BA による肝脂質蓄積が血圧上昇や尿中アルブミン値の上昇を伴うことが示された。MAFLD は段階的に悪化するため、改善が見込める段階と改善できない程の段階がある。つまり、生活習慣による疾患の予防を目指すためにはより早期の疾患モデルの構築が必要となる。本研究は、ラットを用いた 12 $\alpha$ OH BA による炎症を伴わない初期の単純性脂肪肝モデルが、高血圧のモデルとしても活用できることを示した。