HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マウスにおける肝脂質蓄積とステロール代謝変動に及ぼす12水酸化胆汁酸の役割［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	岩﨑, 若菜
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第15764号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92621
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	IWASAKI_Wakana_review.pdf, 審査の要旨

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（農学）　　氏名　岩 﨑　若 菜

審査担当者　主 査　教 授　石 塚　敏
副 査　教 授　園 山　慶
副 査　准教授　比 良　徹

学 位 論 文 題 名

マウスにおける肝脂質蓄積とステロール代謝変動に及ぼす12水酸化胆汁酸の役割

本論文は、和文114頁、図22、表10、2章からなり、参考論文1編が添えられている。

非感染性疾患の一つである metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease（MASLD）は世界人口の約 30%が罹患しており、今後も罹患者数の増加が予想される疾患である。MASLDは生活習慣や遺伝的要因等により肝臓に脂質が蓄積し、炎症や線維化を伴って肝炎や肝硬変へと進行する一連の疾患の総称である。MASLDの発症初期の単純性脂肪肝であれば生活習慣への介入による改善が十分可能と考えられる。このようなMASLDの初期段階における代謝変動を的確に捉えることができれば、早期の対応が可能となり、社会全体としての健康増進に寄与するものと期待される。

マウス、ヒト、ラットにおいて、種々のステロールにおける代謝変動がMASLD初期の肝脂質蓄積に関与する可能性が報告されている。高脂肪食を摂取させたラットでは、コレステロール（Chol）異化の最終産生物の一つである12水酸化（12OH）胆汁酸（BA）の濃度が門脈血漿及び糞中で増加する。また、肝臓で合成され得る12OH BAであるコール酸（CA）を0.5 g/kg diet添加した食餌を与えると、肝脂質蓄積を含む症状が誘導され、糞中12OH BA 濃度と肝トリグリセリド（TG）濃度との間に正の相関が見られた。一方で、ステロール代謝はラットとマウスの間でも異なることが報告されている。疾患発症において動物種間で共通する代謝経路が存在するならば、それは生存戦略上重要な代謝経路である可能性が高い。そこで本研究では、肝脂質蓄積における12OH BAの関与についてラットで得られた知見がマウスに適用し得るかについて検証した。まず、C57BL/6J（B6）マウスにおいて高脂肪（HF）食摂取が BA 組成を変動させるかを評価し、12OH BA と肝脂質蓄積量の関係を解析した。次に、B6マウスにおいて Chol や CA を添加した食事によりステロール代謝負荷させた肝臓で生じる脂質及びステロール代謝変動を解析した。これらを基に、マウスにおける肝臓でのステロール代謝と肝脂質蓄積の関係について、特に肝脂質蓄積や関連指標に及ぼす12OH BAの影響を検証し、ラットで得られた知見との整合性や相違を評価した。

第 1 章 HF 食摂取マウスでの肝脂質蓄積における 12OH BA の関与

4 週齢の B6 マウスに HF 食を 13 週間摂取させ、BA 組成の変動や肝脂質代謝を評価した。その結果、B6 マウスの肝臓及び門脈血漿中の BA 組成は HF 食摂取によって明確な 12OH BA 濃度の増加は観察されず、むしろ非 12OH BA 濃度が減少することが明らかとなった。一方糞中では 12OH BA 濃度が増加し、ラットと同様な BA 組成の変動を示した。糞中 12OH BA 量と肝 TG 蓄積量との間に相関は認められなかったが、糞中の 12OH BA/非 12OH BA 比と肝 TG 濃度との間に正の相関が認められた。このことは、マウスにおいては糞中の 12OH BA/非 12OH BA 比を用いることで肝脂質蓄積の程度を予測し得ることが示された。さらに HF 摂取マウスでは、肝臓への Chol 蓄積を伴い様々な酸化 Chol 濃度が増加し、糞中 Chol 排泄量が増加した。HF 摂取ラット肝臓では、酸化 Chol のうち BA 前駆体のみが有意に増加することや、糞中 Chol 排泄量に有意な差が認められないことから、マウスではラットと異なりステロール排泄形態として Chol そのものの役割が大きいことを見出した。

第 2 章 Chol 及び CA 添加食摂取マウスにおける肝脂質蓄積とステロール代謝変動の関係

ステロール負荷した際の B6 マウスにおける肝脂質及びステロール代謝の変動を解析した。4 週齢の B6 マウスに対し、3 g Chol/kg diet を添加した食餌、0.5 g CA/kg diet を添加した食餌、またはこれらを組み合わせた食餌を 6 週間与え、ステロール代謝やそれに付随して変動する代謝物を解析した。Chol 負荷は、門脈血漿中の非 12OH BA 濃度の増加や糞への非 12OH BA 排泄の増加を引き起こしたものの、12OH BA の代謝には影響を及ぼさなかった。CA 負荷は 12OH BA /非 12OH BA 比を増加させたものの、肝脂質蓄積を誘導しなかった。これらのことは、12OH BA /非 12OH BA 比の増加が肝 TG と正の相関を示すためには、食餌を介して得られるエネルギーが必要以上に存在することが条件であると考えられる。また、Chol と CA を組み合わせた食餌は肝臓での TG 及び酸化 Chol 濃度、炎症関連の遺伝子発現をより強く増加させることが明らかとなった。この時、還元型/酸化型グルタチオン比が減少することを見出しており、肝臓での酸化ストレスがより増す可能性が示された。

本研究により、ステロール負荷において、マウスとラットでは主要となるコレステロール排泄形態が異なることが見出された。一方、HF 食摂取条件における糞中の 12OH BA/非 12OH BA 比はマウスとラットのどちらにおいても肝 TG 濃度と正の相関を示すことが見出された。加えて、ステロール負荷に伴い肝臓内での酸化還元状態が酸化状態に傾くことがマウスとラットで共通して生じる代謝変動であることを見出した。これらのことは、マウスにおいても腸肝循環に関わる部位の 12OH BA の存在比を調べることで肝脂質濃度が増加する立ち上がりの時期を正確に評価できる可能性を示しており、脂肪肝の未病状態を特定するためのバイオマーカー候補としての 12OH BA の重要性を示すものと考えられる。

よって、審査員一同は、岩﨑 若菜 が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。