

氏 名	潮 正輝
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 甲第688号
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
学 位 授 与 年 月 日	平成25年 9月11日
学 位 論 文 題 目	Ezetimibe prevents hepatic steatosis induced by a high-fat but not a high-fructose diet (エゼチミブは高脂肪食誘導性脂肪肝を発症予防するが、高果糖食誘導性脂肪肝には効果を示さない)
審 査 委 員	主査 教授 安藤 朗 副査 教授 竹内 義博 副査 教授 杉原 洋行

論文内容要旨

※整理番号	694	(ふりがな) 氏 名	うしお まさてる 潮 正輝
学位論文題目	Ezetimibe prevents hepatic steatosis induced by a high-fat but not a high-fructose diet (エゼチミブは高脂肪食誘導性脂肪肝を発症予防するが、高果糖食誘導性脂肪肝には効果を示さない)		
【目的】 Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)及び nonalcoholic steatohepatitis (NASH)患者は増加の一途をたどっているが、NAFLD 発症及び NASH への進行を予防しうる治療は依然確立されていない。NAFLD の主病態として、脂質摂取と共に肝内脂質合成を亢進させる果糖やショ糖などの過剰摂取があり、肝内脂肪蓄積はインスリン抵抗性や炎症を引き起こし NASH へと進展する。小腸上部の刷子縁膜上に存在する Cholesterol transporter である Niemann-Pick C1 Like 1 を阻害するエゼチミブ投与により、コレステロール吸収を阻害する作用以外にも NAFLD が改善するという報告も認めている。本研究では、高脂肪食、高果糖食より誘導される脂肪肝モデルマウスを用いて、NAFLD の発症、進行に対するエゼチミブの効果を比較検討した。 【方法】 1) NAFLD 発症に対するエゼチミブの効果の検討 4 週齢の雄性 CBA/JN マウスを、通常食 (58%スターチ、12%脂肪)、高果糖食 (63%果糖、14.5%脂肪)、高脂肪食 (36.5%スターチ、46%脂肪) を 150kcal/週ずつ与える群と、各々に 0.008%wt/wt エゼチミブを含有した食餌を与える群の計 6 群にわけ、4 週間・8 週間飼育した。 飼育後、肝臓のインスリン感受性の指標としてピルビン酸負荷、全身のインスリン感受性の指標としてインスリン負荷及び腹腔内ブドウ糖負荷試験を行った。体重、内臓脂肪、血清脂質、血糖、インスリンを測定、肝内脂質蓄積量は Oil red O 染色及び Bligh and Dyer 法による脂質抽出法にて検討した。 2) 肝臓における脂質代謝への検討 肝臓における <i>de novo</i> 脂質合成の指標として sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c)、Carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP)、SREBP-1c を調節する転写因子 Liver X receptor α (LXRα)、SREBP-1c 及び ChREBP の標的遺伝子 fatty acid synthase (FAS) の発現量を定量的 RT-PCR 法、Western Blotting 法及び EMSA 法にて検討した。			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

3) 腸管における脂質代謝への検討

腸管における脂肪酸吸収の指標として、Fatty acid transport protein 4 (FATP4) 及び CD36 の発現量を、*de novo* 脂質合成の指標として FAS の発現量を定量的 RT-PCR 法にて検討した。

腸管において CM 形成に重要な ApoB48 の発現量を定量的 RT-PCR 法および、Olive oil 負荷により poloxamer-407 投与後の血漿中の ApoB48 量や初代培養腸管細胞における培養液中への ApoB48 分泌量を Western Blotting 法にて評価した。

【結果】1) NAFLD 発症に対するエゼチミブの効果の検討

高脂肪食、高果糖両群共に体重・内臓脂肪・肝内脂質量が増加し、インスリン抵抗性を認めた。エゼチミブ投与は高脂肪食群にてそれらを抑制したが、高果糖群では抑制効果を示さなかった。高脂肪食群においてのみピルビン酸負荷にて糖新生亢進を認め、エゼチミブにより抑制された。インスリン負荷、ブドウ糖負荷試験においても同様であった。

2) 肝臓における脂質代謝への検討

高脂肪食群において肝臓における SREBP-1c、ChREBP、FAS の発現の増加は認めなかったが、高果糖食では増加した。エゼチミブは、高脂肪食、高果糖食両群において SREBP-1c 及び LXR の発現や活性を抑制したが、ChREBP、FAS の発現は変えなかった。

3) 腸管における脂質代謝への検討

エゼチミブは高脂肪食群においてのみ腸管における FATP4 の発現を抑制した。一方、エゼチミブは高果糖食、高脂肪食の両群において FAS の発現を増加させた。

血清及び培養液中の ApoB48 量は、高脂肪食、高果糖食群両群において増加し、エゼチミブは高脂肪食群においてのみ抑制した。

【考察】肝内脂質蓄積とインスリン抵抗性の相関が報告されており、NAFLD や NASH への進行予防には、肝内脂質蓄積の改善が重要である。本研究では、異なる機序により NAFLD を来す高脂肪食、高果糖食をモデルマウスとしてエゼチミブの効果を検討した。NAFLD 発症には腸管からの脂質流入のみならず、肝臓及び小腸での *de novo* の脂質合成も関与していると考えられた。エゼチミブは高脂肪食における腸管での CM 産生を抑制し肝内脂質蓄積の改善やインスリン抵抗性の改善に寄与することを確認した。一方、高果糖食ではこれらを改善しなかった。NAFLD 治療におけるエゼチミブの効果は食事内容に強く依存すると共に、腸管における脂質輸送及び代謝による CM 産生をいかに抑制するかが重要である可能性が示唆された。

【結論】高脂肪食という外因性脂質の過剰摂取は、腸管での CM 産生が増加し腸管から肝臓へ多量に流入するため、肝内脂質蓄積を来す。エゼチミブは腸管における脂肪酸吸収及びコレステロール吸収を抑制する事により CM 産生を抑制し、肝内脂質量は減少される。一方、果糖の過剰摂取は、肝臓や小腸における内因性脂質合成を亢進させると共に腸管での CM 産生を増加させ、肝内脂質蓄積を来す。エゼチミブは、高果糖食下ではむしろ脂肪酸吸収・腸管 CM 産生・肝や小腸での内因性脂質合成を抑制できず、肝内脂質蓄積を改善できない。エゼチミブによる脂肪肝への改善効果は、食事内容に依存する。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	694	氏名	潮 正輝
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと。) 脂肪肝に対するエゼチミブ (小腸コレステロール輸送蛋白の阻害剤) の効果とその効果発現機序について高脂肪負荷および高果糖負荷マウスモデルを用いて検討を行い、以下の点を明らかにした。 1) エゼチミブは高脂肪食群において血清コレステロール値、肝脂肪沈着、インスリン抵抗性を改善したが、これらの効果は高果糖食群では認められなかった。 2) 高脂肪食により誘導される脂肪肝は小腸での脂肪吸収と関連する。エゼチミブは長鎖脂肪酸輸送担体 fatty acid transfer protein-4 やカイロミクロン合成にかかわる apoB-48 の小腸における発現を抑制した。この効果は高果糖食群では認められなかった。 3) 高果糖により誘導される脂肪肝は小腸、肝臓における脂肪合成と関連する。エゼチミブは高果糖食により誘導される脂肪合成にかかわる sterol regulatory element binding protein 1c の発現を転写レベルで抑制したが、carbohydrate response element-binding protein や fatty acid synthase の発現には影響しなかった。 4) エゼチミブの脂肪肝に対する予防、治療効果は、主に小腸における脂肪の吸収抑制効果を介して発揮される。 本論文は、エゼチミブの脂肪肝に対する効果発現機序の解析から脂肪肝治療における食事の影響について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。 (総字数 534 字) (平成 25 年 9 月 2 日)			