

氏 名	筋 師 徹 也
(ふりがな)	(すじし てつや)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成28年1月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Sitagliptin can inhibit the development of hepatic steatosis in high-fructose diet-fed ob/ob mice (シタグリプチンは高フルクトース飼料摂取の ob/ob マウスにおいて肝の脂肪変性を抑制する)
論文審査委員	(主) 教授 花 房 俊 昭 教授 内 山 和 久 教授 林 道 廣

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《 目 的 》

非アルコール性脂肪性肝炎(Nonalcoholic steatohepatitis; NASH)を含む非アルコール性脂肪性肝疾患(Nonalcoholic fatty liver disease; NAFLD)は、適切な治療を怠ると、脂肪性肝炎、脂肪性肝硬変症、肝癌を発症する疾患である。NAFLD は、肝臓へ中性脂肪が蓄積している病態で、肥満、高血圧、インスリン抵抗性、糖脂質代謝異常が関与しており、2型糖尿病患者で有病率が増加すると考えられている。

近年、消化管由来ホルモンであるインクレチンの一種である Glucagon-like peptide 1 (GLP-1)が糖尿病治療薬として使用され、脂肪性肝疾患を改善することが報告されている。この GLP-1 の効果は生体内ではセリンプロテアーゼの一種である dipeptidyl peptidase 4 (DPP4)によって速やかに不活化されることから、その阻害剤が2型糖尿病治療に用いられてきている。DPP4 阻害薬が、動物実験において肝の脂肪変性を阻害することは報告され

ているが、その阻害効果の詳細なメカニズムについては、未だ解明されていない。今回、肥満及び2型糖尿病を発症するマウスにフルクトースを豊富に含んだ飼料を摂取させ、作成したNAFLDモデルを用いて、DPP4阻害薬のNAFLDへの進展過程に及ぼすその効果について詳細に検討した。

《方 法》

今回、2型糖尿病のモデルマウスとして ob/ob マウスを使用した。飼料はフルクトースを60%配合した高炭水化物食を使用し、DPP4阻害薬としてシタグリプチンを使用した。実験のデザインは、コントロール群として5週齢の雄性の ob/ob マウスに高炭水化物飼料を摂取させる群を作成し、実験群として同週齢の ob/ob マウスにシタグリプチンを添加した高炭水化物飼料を摂取させる群を作成した。投与期間は8週間とし、期間終了後に血液および肝臓のサンプルを採取し、血液生化学検査および肝臓の組織学的検査、リアルタイムPCR法による肝臓での遺伝子発現検査を行い効果について検討した。

《結 果》

実験期間中の2群間の体重変化及び実験終了時の肝重量と体重の比率に有意差は認めなかった。血中の脂質関連の数値においてはシタグリプチン投与群で有意な低下を認め、組織学的検査においてもシタグリプチン投与群で肝の脂肪変性発現の低下傾向を認めた。この組織学的な変化の機序を明らかにするために、リアルタイムPCR法を使用して肝臓での脂質関連遺伝子の発現の検討を行った。結果、直接脂肪酸合成の経路に関わる遺伝子として、ミトコンドリアから放出されたクエン酸をアセチル CoA へと分解する ATP-citrate lyase (ACL)、アセチル CoA をマロニル CoA へと変換する acetyl-CoA carboxylase 1 (ACC1)、マロニル CoA からアシル CoA へと変換し中性脂肪合成へとつなげる fatty acid synthase (FAS)の遺伝子発現についてはシタグリプチン投与群で有意な発現比率の低下を認めた。またこれらの遺伝子発現を促進させる Sterol regulatory element-binding protein-1c(SREBP-1c) 及び Carbohydrate-responsive element-binding protein

(ChREBP)の遺伝子発現においては、SREBP-1c に有意差は得られなかったが、シタグリプチン投与群で発現比率の上昇傾向を認め、ChREBP についてはシタグリプチン投与群で有意差をもって発現比率の上昇を認めた。

以上の結果を踏まえて、さらに血漿のアセチル CoA、マロニル CoA の濃度を ELISA 法にて検討を行ったところ、アセチル CoA 濃度は両群間に有意差はなく、一方、マロニル CoA 濃度はシタグリプチン投与群で有意な低下を認めた。

《 考 察 》

今回の実験でシタグリプチン投与群において肝の組織学的検査で脂肪変性発現の低下を認めた。肝臓での脂質関連遺伝子の発現の検討の結果、シタグリプチン投与群で、SREBP1c の発現比率上昇傾向、ChREBP の発現比率上昇を認めた。SREBP1c、ChREBP はフルクトースの代謝過程で上方に発現し、中性脂肪の合成に寄与するが、今回の研究において、これらの脂質遺伝子によって発現が促進される ACL、FAS、ACC1 についてはいずれも発現比率の低下を認めた。血漿アセチル CoA 濃度は両群間に有意差は無く、マロニル CoA 濃度、遊離脂肪酸濃度、中性脂肪濃度はシタグリプチン投与群で有意な低下を認めた。これらの結果から、本研究における肝脂肪変性の発現過程において、シタグリプチンが ACC1 の発現を直接抑制することで、マロニル CoA の産生の低下をもたらし、肝脂肪変性を阻害した可能性が示唆された。この研究結果は肥満及び 2 型糖尿病患者での NAFLD を有する 2 型糖尿病患者に対して治療薬の選択を考えることにおいて寄与するものとする。

《 結 論 》

DPP4 阻害剤は肝臓の脂肪変性の発現過程において、ACC1 の発現を抑制することによって、肝臓での中性脂肪合成に関連するマロニル CoA の合成を阻害し、肝臓での脂肪変性の発現を阻害した。多くの糖尿病治療薬の中で、DPP4 阻害薬を選択することは、2 型糖尿病患者で合併の多い NAFLD の発現を抑制することに有用である可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

非アルコール性脂肪性肝疾患(Nonalcoholic fatty liver disease; NAFLD)は、近年世界的に罹患率の上昇を認めており、適切な治療を怠ると、脂肪性肝硬変症、肝癌を発症する疾患である。NAFLD の病態は肝臓へ中性脂肪が蓄積している状態であり、2 型糖尿病患者で有病率が増加すると考えられている。申請者らは、2 型糖尿病のモデルマウスである ob/ob マウスに、高フルクトース飼料を摂取させることで NAFLD モデルを作成し、2 型糖尿病の治療薬である DPP4 阻害薬(シタグリプチン)を用いて NAFLD への進展過程に及ぼす効果について検討した。その結果、血中の脂質関連の数値においてシタグリプチン投与群で有意な低下を認め、組織学的検査においてもシタグリプチン投与群で肝の脂肪変性発現の低下を認めることを示した。さらに、肝臓での脂質関連遺伝子の発現の検討を行い、直接脂肪酸合成の経路に関わる遺伝子である ATP-citrate lyase (ACL), acetyl-CoA carboxylase 1 (ACC1), fatty acid synthase (FAS)の遺伝子発現についてシタグリプチン投与群で有意発現比率の低下を認めること、そしてこれらの遺伝子発現を促進させる Sterol regulatory element-binding protein-1c(SREBP-1c) 及び Carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP)の遺伝子発現においては、SREBP-1c の発現比率の上昇傾向と、シタグリプチン投与群で ChREBP の有意な発現比率上昇を認めた。また実際に生成される、血漿のアセチル CoA、マロニル CoA の濃度を ELISA 法にて検討を行ったところ、アセチル CoA 濃度は両群間に有意差はない一方で、マロニル CoA 濃度はシタグリプチン投与群で有意な低下を認めた。これらの事から、肝脂肪変性の発現過程において、シタグリプチンが ACC1 の発現を直接抑制することで、マロニル CoA の産生の低下をもたらし、肝脂肪変性を阻害する可能性を示した。この研究結果は NAFLD を有する 2 型糖尿病患者に対しての治療薬選択において寄与するものと考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 57 (3): 244-253, 2015