

[別紙2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 西川 智美

申請者は本研究において、高脂肪食（HFD）給餌マウスの脂肪肝発生における系統・性・年齢の影響、エネルギー状態の影響を検索し、脂肪肝モデル系の確立を行なった。

第1章では、HFD給餌による肥満と脂肪肝の特徴について、マウスの系統、性、週齢による差異を検討した。5週齢のC57BL/6Jマウス（B6）雌雄、5週齢のBALB/cAマウス（BALB/c）雌雄、および54週齢のB6雌雄を用いて9週間HFD給餌を行い、通常食群と比較した。その結果、5週齢のB6とBALB/cの雄では、HFD給餌による体脂肪量の増加はB6とBALB/cは同程度であるのに対して、肝の脂肪滴増加はB6に比べBALB/cで顕著であり、系統差があることが示された。また、性差については、BALB/cの雌では雄で認められた様な摂取エネルギーの増加、体脂肪量の増加、肝の脂肪滴増加は軽度であるかあるいは認められなかった。週齢差については、54週齢からHFD給餌したB6では5週齢から給餌したB6より体脂肪量の増加の程度が大きく、肝の脂肪滴増加も顕著であった。肝の脂肪滴増加について系統差、性差、週齢差が認められたが、性差と週齢差については、肥満の程度の違いに伴って脂肪肝の程度も変化したと考えられた。一方、B6とBALB/cでは肥満の程度が同じであったことから、肝の脂質代謝に違いがあると考えられた。

次いで、第2章では、空腹・満腹といったエネルギー状態の違いがHFD給餌したB6とBALB/cの肝で脂質代謝にどのような影響を与えるかを明らかにするために、絶食時と非絶食時の肝における遺伝子発現および肝への脂質蓄積の程度を両系統で比較した。その結果、BALB/cは絶食・非絶食時とも顕著な肝の脂肪滴沈着を示したのに対し、B6では非絶食時には著しい肝の脂肪滴沈着を示したが絶食時では脂肪滴沈着はわずかであった。遺伝子発現解析の結果、BALB/cでは絶食によって減少すると考えられている脂肪酸合成関連遺伝子や、それらの転写因子の発現減少がB6に比べて軽度であった。また、B6ではトリグリセリド合成関連遺伝子の発現が減少したが、BALB/cでは変動しなかった。以上のことから、HFD給餌したBALB/cでは、通常は絶食によって抑制され

る脂肪酸合成やトリグリセリド合成が、絶食しても亢進したままであることが明らかになり、このことが B6 と BALB/c の肝の脂肪滴増加の差に関連していると考えられた。

第 3 章では、HFD による BALB/c の脂肪肝進展機序を詳細に検討するため、HFD あるいは通常食を 1 週間、4 週間、9 週間給餌した BALB/c および 9 週間給餌した B6 について、マイクロアレイ解析によって肝における遺伝子発現変化を調べた。その結果、1 週間または 4 週間給餌した BALB/c では HFD による肝の脂肪滴増加はごく軽度であった。1 週間の HFD 給餌ではケトン体の合成関連遺伝子の発現が増加、脂肪酸合成関連遺伝子の発現が減少、さらに 4 週間の HFD 給餌では遊離脂肪酸の取り込みに関連する遺伝子の発現が軽度に増加しており、脂肪酸異化の亢進、脂肪酸合成の抑制、軽度の遊離脂肪酸取り込み亢進が起こっていると考えられた。9 週間 HFD を給餌した BALB/c は、顕著な肝の脂肪滴増加を示し、遊離脂肪酸の取り込みや脂肪酸合成に関連する遺伝子の発現が増加していた。一方、9 週間給餌した B6 では肝の脂肪滴増加はごく軽度であり、遺伝子発現においては HFD 群と通常食群で著しい差は認められなかった。以上より、BALB/c の脂肪肝発生の一因としては、遊離脂肪酸の取り込みおよび脂肪酸合成の亢進が重要であることが示唆された。

以上の結果から、マウスの HFD 給餌による脂肪肝の発生には系統差があり、BALB/c では絶食の有無に関わらず脂肪肝が維持されるのに対し、B6 では絶食により脂肪肝が改善することが明らかになった。さらに、遺伝子発現解析の結果から、BALB/c では絶食による脂肪酸合成やトリグリセリド合成抑制が生じない、あるいは軽度であることが B6 との系統差の一因と考えられた。また、1 週間、4 週間、9 週間給餌した BALB/c と 9 週間給餌した B6 の肝組織像、および遺伝子解析の結果から、BALB/c の肝では HFD によって脂肪酸の取り込みと合成が亢進していることも脂肪肝発生の一因と考えられた。

本研究の成果は、通常は肥満の実験モデル動物としては用いられない BALB/c が、これまで用いられてきた B6 よりも脂肪肝になりやすいこと、およびその脂肪肝発生機序として肝での脂肪酸合成関連遺伝子の発現異常が関連することを指摘し、脂肪肝モデルとして有用であることを示した点で非常に重要であると考えられた。こうした成果は、ヒトの非アルコール性脂肪肝研究のための新たな実験モデル系を提案するものであり、今後の同分野の研究に貢献することが大いに期待される。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。