

氏名	久芳 素子		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 7850 号		
学位授与年月	平成 28 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Absence of <i>Elovl6</i> attenuates steatohepatitis but promotes gallstone formation in a lithogenic diet-fed <i>Ldlr</i> <sup>-/-</sup> mouse model ( <i>Elovl6</i> 欠損は胆石形成食負荷 LDL 受容体欠損マウスにおいて脂肪性肝炎を抑制するが、胆石形成を促進する)		
主査	筑波大学教授	医学博士	正田 純一
副査	筑波大学講師	博士 (農学)	蕨 栄治
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	磯部 和正
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	酒井 俊

## 論文の内容の要旨

### (目的)

脂質の脂肪酸組成は肝炎症病態の進展に関わる重要な因子である。Elovl6 (ELOVL family member 6, elongation of long chain fatty acids) は炭素数 12-16 の飽和・一価不飽和脂肪酸を基質として炭素数 18 の脂肪酸を合成する脂肪酸伸長酵素である。Elovl6 の欠損は肝組織における脂肪酸組成を変化させ、その結果、インスリン抵抗性を改善することが報告されている。そこで本研究では、非アルコール性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis: NASH) の進展・発症における Elovl6 の果たす役割について、NASH の動物モデルである胆石形成食負荷 LDL 受容体欠損マウスを用いて解析した。

### (対象と方法)

LDL 受容体欠損 (*Ldlr*<sup>-/-</sup>) マウスと Elovl6 欠損 (*Elovl6*<sup>-/-</sup>) マウスを交配し、LDL 受容体/Elovl6 二重欠損 (*Elovl6*<sup>-/-</sup>*Ldlr*<sup>-/-</sup>) マウスを作製した。11-16 週齢の *Elovl6*<sup>+/+</sup>*Ldlr*<sup>-/-</sup> マウスと *Elovl6*<sup>-/-</sup>*Ldlr*<sup>-/-</sup> マウスに、普通食 (standard diet; SD), または、胆石形成食 (lithogenic diet; LD) [脂質 (バター, ラード) 16.5%, コレステロール 1.25%, コール酸塩 0.5%含有] を 4 週間負荷した後に、体重, 組織重量, 肝病理組織, 血漿および肝中脂質含量, 肝脂肪酸組成, 肝遺伝子発現, 肝タンパク質発現を解析した。

### (結果)

LD 負荷により, *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスと *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスの両群で肝重量の増加を認めたが, *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスの増加は *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスに比較して抑制された. *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスでは LD 負荷により胆嚢重量が著しく増加したが, *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスでは *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスに比較して胆嚢重量増加が有意に抑制された. *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスでは, *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスに比べて, LD 給餌下の血漿中総コレステロール, ALT, 総胆汁酸, 肝中総コレステロール値, 肝中トリグリセリド値が有意に減少した. 肝病理組織では, *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスに比べて *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスでは, LD 負荷による脂肪肝と炎症細胞浸潤が抑制された. *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスに比較して *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスでは, LD 負荷によるコレステロール胆石形成が観察された. 肝の脂肪酸組成解析では, *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスで C16:0 が増加し, C18:1n-9 が減少した. この脂肪酸組成の変化は特にコレステロールエステル分画とリン脂質分画で顕著に認められた. 肝遺伝子発現解析では, 脂肪酸合成関連遺伝子 *Srebf1*, *Fasn*, *Scd1* およびトリグリセリド合成関連遺伝子 *Gpam*, *Dgat2* の発現が LD 負荷 *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスに比べて *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスで増加した. *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスでは, コレステロールのエステル化に関わる *Acat2* の増加, 胆汁酸合成の代替経路にかかわる *Cyp7b1*, *Cyp27a1* の増加を認めた. *Elovl6<sup>+/+</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスに比べて *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスの肝臓では, 炎症・酸化ストレス, 線維化関連遺伝子の発現が減少した.

#### (考察)

*Elovl6* の欠損は, LD の過栄養状態において, 脂肪酸代謝とともにコレステロール代謝および胆汁酸代謝にも影響し, 脂肪肝とそれに続く炎症・酸化ストレス, 線維化を抑制して脂肪性肝炎の発症を抑えることが明らかとなった. LD 負荷 *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスでは, 血漿総胆汁酸の有意な減少と肝臓における胆汁酸代謝関連遺伝子の変化がみられた. 胆汁酸合成の代替経路にかかわる *Cyp7b1* の発現は, 脂肪肝の程度と負の相関があるという報告があり, *Elovl6<sup>-/-</sup>Ldlr<sup>-/-</sup>*マウスにおける *Cyp7b1* の発現増加は肝障害の抑制の一因となった可能性がある. 一方, *Elovl6* の欠損は LD による胆石形成を促進した. 胆石形成促進の原因に関しては, エステル化されなかったコレステロールの胆汁中への分泌の促進, 胆汁酸への変換の亢進および胆汁中への分泌の促進, リン脂質脂肪酸組成の変化などの影響が考えられる.

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究の意義は, 本邦において増加の一途にある NASH の形成機序に脂肪酸代謝酵素である *Elovl6* が関与し, 一方, NASH モデルにおいて *Elovl6* の欠損により, 肝脂肪化が軽減し, さらに炎症・酸化ストレス, 線維化などの肝病変の進展が抑止されることを見出した点にある. また, 興味深い点は, *Elovl6* の欠損は LD による胆石形成を促進した点である. 慢性肝疾患と胆石形成には病態関連性があり, NASH 肝にける脂質代謝異常により胆汁脂質組成に変化を生じた結果, 胆石形成が促進したと推測される. 本研究が今後のヒト NASH の病態研究や新規治療法の開発へと発展することを期待する.

平成 28 年 2 月 2 日, 学位論文審査委員会において, 審査委員全員出席のもと論文について説明を求め, 関連事項について質疑応答を行い, 最終試験を行った. その結果, 審査委員全員が合格と判定した.

よって, 著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める.