

|         |  |         |       |
|---------|--|---------|-------|
| 氏名      | 小峰 昇一  |         |       |
| 学位の種類   | 博士 (医学)  |         |       |
| 学位記番号   | 博甲第 8688 号   |         |       |
| 学位授与年月  | 平成 30年 3月 23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  | 継続的運動は Kupffer 細胞の食食能向上により Endotoxin に対する生体クリアランス増大と炎症応答の低下を誘導する |         |       |
| 主査      | 筑波大学教授   | 医学博士    | 山崎 正志 |
| 副査      | 筑波大学准教授  | 博士 (医学) | 渋谷 和子 |
| 副査      | 筑波大学准教授  | 博士 (医学) | 古川 宏  |
| 副査      | 筑波大学助教   | 博士 (医学) | 瀬川 誠司 |

## 論文の内容の要旨

小峰昇一氏の博士学位論文は、継続的運動が Kupffer 細胞の食食能向上により Endotoxin に対する生体クリアランス増大と炎症応答の低下を誘導する効果を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

### (目的)

非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease: NAFLD) の発症や進展には腸内細菌由来の endotoxin が重要な役割を演じる。一方、生体の Kupffer 細胞 (KCs) による endotoxin の処理能力も重要な要因である。NAFLD の予防と治療には運動実践が有用であるが、その詳細な分子メカニズムは十分に解明されていない。そこで著者は、運動負荷が KCs の表現形質に与える影響を検討するために、endotoxin に対する生体クリアランスと炎症応答の観点より解析している。また、運動による KCs 表現形質の変化についてステロイドホルモンの変動の観点より検討している。

### (方法)

著者は、In vivo 実験で、野生型マウス 8 週齢を安静群と中強度の運動群 (週 5 回を 3 ヶ月間、漸増負荷 10-18 m/分, 50 分/日) に分けている。運動負荷の最終日の翌日に endotoxin (0.01 µg/g body weight) を尾静脈投与し、同部位から経時的に血漿 endotoxin 濃度と炎症性サイトカイン濃度 (TNF-α と IL-6) を測定している。KCs の latex beads 食食能と食食に関与する表面タンパク質 (CD68, MARCO, SR-A) の発現レベルを解析している。さらに、ステロイドホルモン (DHEA, testosterone, corticosterone, estradiol) とアディポカイン (leptin, adiponectin) 濃度を測定している。引き続き著者は、In vitro 実験で、マウスマクロファージ細胞株 (RAW264.7) に対してステロイドホルモンを添加し、latex beads 食食能と endotoxin 刺激に対する炎症応答シグナル分子 (NF-κB-p65) の発現に及ぼす影響を検討している。

### (結果)

In vivo 実験では, endotoxin の血中濃度-時間曲線下面積 (area under the curve : AUC) は, 安静群に比して運動群では有意に減少した (AUC  $32.0 \pm 2.0$  vs.  $24.5 \pm 1.4$  EU/ml,  $P < 0.05$ ). Endotoxin 投与 1.5 時間後の TNF- $\alpha$ , IL-6 濃度は, 運動群では安静群に比して低値を示した (TNF- $\alpha$ :  $19.5 \pm 5.2$  vs.  $11.0 \pm 3.6$ , IL-6:  $14.5 \pm 0.9$  vs.  $10.6 \pm 0.6$  ng/ml,  $P < 0.05$ ). 運動負荷は endotoxin に対する生体クリアランスの増大と炎症応答を低下させた. マクロファージの除去を施したマウスでは, 運動負荷によるこれらの効果は消失した. KCs の latex beads 貪食能は運動群において増加した (MFI:  $+20.8 \pm 4.5$  %,  $P < 0.05$ ). また, 運動群において CD68, MARCO, SR-A の発現レベルは有意に増加した (CD68:  $+25.6 \pm 1.1$  %, MARCO:  $+18.0 \pm 1.1$  %, SR-A:  $+14.8 \pm 3$  %,  $P < 0.05$ ). 各種ステロイドホルモンの血中濃度の変動を測定した結果, DHEA のみが運動群で増加した ( $3.5 \pm 1.1$  vs.  $6.8 \pm 1.2$  ng/ml,  $P < 0.05$ ). In vitro 実験では, RAW264.7 に DHEA (濃度  $10 \mu\text{g/ml}$ ) を添加すると, latex beads 貪食能は増大し (MFI:  $+15.2 \pm 1.7$  %,  $P < 0.05$ ), endotoxin 刺激による炎症応答シグナル分子 NF $\kappa$ B-p65 のリン酸化は有意に抑制された ( $-25.0 \pm 4.1$  %,  $P < 0.05$ ).

### (結論)

本研究の結果から著者は, 中強度運動の継続は DHEA の産生増加を介して, KCs の貪食能向上による endotoxin に対する生体クリアランスの増大と炎症応答の低下を誘導することを明らかにしている. 加えて, 運動実践による NAFLD の改善には, KCs 表現形質の変化が介在している可能性を示している.

## 審査の結果の要旨

### (批評)

本研究は, NAFLD のマウスモデルにおいて, 継続的運動が KCs の貪食能向上による endotoxin に対する生体クリアランスの増大と炎症応答の低下を誘導するメカニズムを多角的かつ包括的に解明している. 近年, 食習慣の欧米化や慢性的運動不足による肥満を基盤とする NAFLD は肝におけるメタボリック症候群として大きな問題となっているが, 本研究の成果は, 本症の予防や治療の戦略を構築する上で重要な知見として高く評価される.

平成 29 年 12 月 25 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.