

学位論文内容要旨

論文題目

マウス非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) モデルにおける
Toll-like receptor-2 と Toll-like receptor-4 の役割の解明

指導 (紹介) 教授: 河田 純男

申請者氏名: 鈴木 明彦

【目的】非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の病因として、肝への脂肪沈着にて発症し (first hit), second hit が加わり進展するという two hit theory が提唱されている。Second hit として腸内細菌由来のエンドトキシン (lipopolysaccharide:LPS) が肝 Kupffer 細胞を活性化し、サイトカイン産生異常や酸化ストレスをもたらすと考えられている。このとき、Kupffer 細胞において細菌由来成分の認識に関わるのが、Toll-like receptors (TLRs) である。TLR-2 や TLR-4 は細菌由来のリポ蛋白、LPS にそれぞれ特異的に反応し、細菌感染防御の中心的役割を担っている。病的条件下では Kupffer 細胞に発現される TLRs を介してサイトカイン産生異常が起こり、NAFLD を惹起すると推測される。しかし自然免疫に関わる TLRs が、どの様に NAFLD の発症・進展に関わっているか不明である。本論文では TLR-2 と TLR-4 の遺伝子ノックアウト (-/-) マウスを用いて NAFLD モデルを作成し、TLR-2 と TLR-4 の役割を検討した。

【方法】Wild type マウス肝における TLR-2, TLR-4 の発現を in situ hybridization にて検討した。Wild type, TLR-2 (-/-), TLR-4 (-/-) の各マウスにメチオニン・コリン欠乏 (MCD) 食を投与して NAFLD を誘導し、血液生化学検査と肝組織像評価を行った。Wild type マウスにて MCD 食開始後の肝 TLR-2, TLR-4 の蛋白発現を Western blotting にて検討した。マウスサイトカイン抗体アレイを用い、MCD 食開始後の Wild type, TLR-2 (-/-), TLR-4 (-/-) の各マウスのサイトカイン・関連因子発現の解析を行った。

【結果】TLR-2 と TLR-4 は肝組織の中で Kupffer 細胞に発現されていた。MCD 食投与による NAFLD モデルにおいて、血液生化学検査及び組織像から、TLR-2 (-/-) 群では Wild type 群と比べ脂肪性肝炎が増悪し、TLR-4 (-/-) 群では脂肪性肝炎発症が抑制された。従って TLR-2 は NAFLD 発症抑制的に、TLR-4 は NAFLD 発症促進的に働くことが示唆された。Western blotting の結果、MCD 食投与後 TLR-2 および TLR-4 の発現変化はみられなかった。MCD 食開始後のサイトカイン解析の結果、炎症性サイトカイン、炎症や免疫反応の誘導・抑制に関与する因子、インスリン抵抗性に関与する因子、線維化に関与する因子など様々なサイトカイン・関連因子発現の亢進・低下がみられた。

【結語】本研究は TLR-2 (-/-) マウスと TLR-4 (-/-) マウスを同時に用いて NAFLD を誘導させ解析した、初の報告である。TLR-2 と TLR-4 は、様々なサイトカイン・関連因子産生の差異を介して、NAFLD 発症と進展に関与することが示された。

平成 20 年 2 月 5 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：鈴木 明彦

論文題目：マウス非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)モデルにおける Toll-like receptor-2 と Toll-like receptor-4 の役割の解明

審査委員：主審査委員

山川 光徳



副審査委員

浅尾 裕信



副審査委員

高永 真琴



審査終了日：平成 20 年 2 月 4 日

[予備審査結果の要旨]

非アルコール性脂肪性肝障害 non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)は、飲酒歴がないにもかかわらず、病理組織学的にアルコール性肝障害に類似した所見を示す病態であり、ウイルス、自己免疫疾患などの他の要因を除外したものである。NAFLD は単純性脂肪肝から、脂肪性肝炎、肝線維症、肝硬変までを含む概念で、NAFLD 中の重症病型が非アルコール性脂肪性肝炎 non-alcoholic steatohepatitis (NASH)と呼ばれる。NASH は糖尿病や肥満症を高頻度に合併し、メタボリック症候群とともに特に注目を浴びている。NASH ではインスリン抵抗性が肝臓への脂肪蓄積を引き起こす主因で、遊離脂肪酸増加による酸化ストレスの亢進、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、adipocytokine なども関与するとされている。しかし、未だ、発症機序と病態の完全な解明には至っていない。

本論文の著者は、NAFLD の発症機序に関する Toll-like receptor (TLR)の役割に着目し、ヒト NAFLD 相当の脂肪性肝炎モデルを TLR-2 と TLR-4 のノックアウトマウスに作製することを同時に試み、さらに脂肪性肝炎発症への炎症性サイトカインなどの種々の因子の関与について検討した。

その結果、著者は、TLR-2 ノックアウトマウス群では脂肪性肝炎が増悪し、一方、TLR-4 ノックアウトマウス群ではその発症が抑制されることを確認した。また、発症には insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, IGF-binding protein-2 などの発現低下が、発症の抑制には interleukin-7 や TNF- α などが関与することを示した。さらに、TLR-2 と TLR-4 が肝臓では Kupffer 細胞に発現することを *in situ hybridization* 法で確認した。

以上、本研究には重要な新知見が含まれており、結果に対する十分な考察もなされていた。本研究で得られた成果は、NAFLD の発症機序の解明に新たな道を開くものと期待される。本審査委員会では、全員一致して、博士 (医学) 論文にふさわしいものと判断し、合格とした。