




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第485号	氏名	織部 淳哉
審査委員会委員	主査氏名	白石 亨男	
	副査氏名	山岡 吉生	
	副査氏名	村上 和成	
論文題目 Intraperitoneal administration attenuates thiazolidine-induced hepatic steatosis in KKAY mice with increased hepatic peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ mRNA expression (KKAYマウスにおいてチアゾリジン誘導体の腹腔内投与は、その脂肪肝増悪作用を抑制する)			
論文掲載雑誌 Obesity Research and Clinical Practice (in press)			
論文要旨 <p>インスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体は、ヒトや遺伝性肥満糖尿病ラットにおいて、糖代謝の改善のみならず、脂肪肝改善作用があることが知られている。しかしながら、遺伝性肥満糖尿病 (KKAY) マウスでは逆に脂肪肝の増悪が報告されており、その機序については不明である。脂肪肝の改善/増悪の機序を明らかにすることを目的とした。</p> <p>生後8, 14, 19週齢のKKAYマウスにチアゾリジン誘導体 (15または50mg/Kg/日) を投与 (経口投与または腹腔内投与) し、非投与群と次の項目について比較した。すなわち、経時的に体重・摂取量・血糖値・肝重量・腹腔内白色脂肪重量・血中triglycerides・alanine aminotransferase (ALT)・インスリン値・アディポネクチン値を測定し、さらに肝臓のHE染色にて脂肪肝の評価を行った。また、遺伝子Ppargの発現と脂肪合成酵素の遺伝子 (コントロール含む) Srebp-1c・Accl・Gpatの発現を検討した。</p> <p>生後14週齢のKKAYマウスに4週間チアゾリジン誘導体 (15mg/Kg/日) を経口投与したところ、脂肪肝を増悪した。4週間、高用量 (50mg/Kg/日) のチアゾリジン誘導体を経口投与すると、さらなる脂肪肝の悪化は認めず、糖代謝の改善を認めた。生後14週齢のKKAYマウスに2週間チアゾリジン誘導体 (15mg/Kg/日) の腹腔内投与を行なったところ、脂肪肝の増悪を認めず、腹腔内脂肪から皮下脂肪へ脂肪分布の変化が観察され、アディポネクチンの増加が観察された。</p> <p>コントロールマウスの肝臓Ppargの発現は極めて低い、KKAYマウスでは、コントロールの3倍ほど高く、脂肪組織の1/10程度まで増加していた。チアゾリジン誘導体 (15mg/Kg/日) の経口投与により肝臓Ppargの発現の増加は観察されなかったが、肝臓内脂肪合成酵素の発現は増加した。</p> <p>以上のごとく、チアゾリジン誘導体の投与による脂肪肝の改善/悪化は、肝臓内でのPpargの基礎発現量や内因性の脂肪合成能、投与経路に伴うチアゾリジン誘導体の量、さらには脂肪組織での作用などにより影響を受けることが示された。</p> <p>今回の検討では、インスリン抵抗性改善薬として用いられているチアゾリジン誘導体の副作用の1つである脂肪肝の発生に影響する要因についての知見を示したのみではなく、インスリン抵抗性糖尿病患者における脂肪代謝、およびその治療薬の薬物動態についても新しい知見を与える可能性のある研究である。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 織部 淳哉

論 文 題 目

Intraperitoneal administration attenuates thiazolidinedione-induced hepatic steatosis in
KKAY mice with increased hepatic peroxisome proliferator-activated receptor
(PPAR) γ mRNA expression

(肝臓に PPAR γ の発現が増加している KKAY マウスにおいて、チアゾリジン誘導体で誘発
される肝臓の脂肪化は腹腔内投与で抑制される)

要 旨

【緒言】インスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体は糖代謝改善のみならず脂肪肝改善作用をもつことが報告されている。しかし、その効果はヒトや遺伝性肥満糖尿病ラットにおいては認められるが、遺伝性肥満糖尿病マウスでは逆に脂肪肝の増悪が報告されており、その機序に関して詳細な検討はなされていない。チアゾリジン誘導体は脂肪細胞の分化増殖に関わる PPAR γ のアゴニストであり、PPAR γ は通常脂肪細胞に高発現しているため、糖代謝改善ならびに脂肪肝改善作用は脂肪細胞での作用によると理解されている。しかし通常、同薬剤は経口投与されるため、脂肪細胞に達する前に肝臓を通過する。脂肪肝の改善/増悪の機序は肝臓と脂肪での作用のバランスが規定していると考え、実験を行った。

【研究対象及び方法】〈実験 1〉 14 週齢雄性 KKAY マウスにピオグリタゾン (15 mg/kg/日) を 4 週間経口投与した。〈実験 2〉 同実験を 8 週齢雄性 KKAY マウスに 15 mg/kg/日と 50 mg/kg/日で実施した。〈実験 3, 4〉 14 週齢雄性 KKAY マウスにピオグリタゾン (15 mg/kg/日) を 2 週間経口投与 (実験 3)、なら

びに2週間腹腔内投与を行った(実験4)。〈実験5〉19週齢雄性KKAyマウスにピオグリタゾン(15 mg/kg/日)を5日間腹腔内投与を行った。体重、摂食量、血糖の経時的観測と、実験終了時に肝臓、白色脂肪組織(皮下、後腹膜、精巣周囲)の重量を測定、肝臓TG含有量ならびにHE染色法で肝臓の組織学的変化を比較した。また、血中のALT、TG、インスリン、アディポネクチンを測定した。さらに、肝臓の*Pparg*の発現をNorthern blot法で、*Srebp-1c*、*Accl*、*Gpat*の発現をmultiplex RT-PCR法で調べた。

【結果】既報告通り、遺伝性肥満糖尿病マウスであるKKAyマウスにピオグリタゾン(15 mg/kg/日)を経口投与すると、週令に関係なく脂肪肝は確かに悪化した。しかし、高用量の50 mg/kg/日投与では脂肪肝のさらなる悪化は観察されず、糖脂質代謝改善はより強かった。コントロールマウスでは肝臓*Pparg*の発現は極めて低い、KKAyマウスではコントロールの3倍程度、脂肪組織の1/10程度まで増加しており、肝臓内での脂肪合成系遺伝子である*Gpat*、*Accl*の発現がともに有意に上昇していた。一方で、ピオグリタゾン(15 mg/kg/日)の腹腔内投与では、経口投与群に比べて脂肪肝の増悪は抑えられており、糖脂質代謝改善もより強かった。また腹腔内脂肪から皮下脂肪への脂肪分布の変化とアディポネクチンのさらなる増加が観察された。体重、摂食量の変化が観察されない5日間の腹腔内投与では脂肪肝の明らかな改善が認められた。腹腔内投与では、脂肪合成系遺伝子の発現は*Gpat*のみ有意に増加しており、それは5日間の投与と14日間の投与で差がなかった。

【考察】通常、肝臓のPPAR γ の発現は極めて低い、KKAyマウスにピオグリタゾンを経口投与すると異所性に高発現したPPAR γ を介して内因性脂肪合成が高まり脂肪肝が悪化したと考えられた。しかし高用量の経口投与では脂肪肝のさらなる増悪は観察されなかったことから、脂肪肝改善/増悪の決定は脂肪組織に到達するピオグリタゾンの量によると推察された。従って、肝臓より先に脂肪組織に作用させるため腹腔内投与をしたところ、脂肪肝は悪化せず、短期間投与では明らかに改善した。このことは腹腔内投与ではピオグリタゾンの脂肪組織での作用が肝臓での作用を凌駕していることを示している。一方で、脂肪量に変化がない5日間投与と差が認められる14日間投与で、アディポネクチンの増加量や脂肪合成系遺伝子発現に差がないことから、たとえ腹腔内投与でも、投与期間が長くなると肝臓での作用が強くなり、脂肪肝は悪化傾向に向かうことが示唆された。つまり、ピオグリタゾンによる脂肪肝の改善/悪化の機序は、その肝臓での作用と脂肪組織での作用のバランスで決定されたと考えられた。

【結語】遺伝性肥満糖尿病マウスであるKKAyマウスにピオグリタゾン経口投与すると、肝臓で高発現しているPPAR γ を介して脂肪肝は悪化するが、腹腔内投与では脂肪肝増悪は抑えられる。その機序は、肝臓PPAR γ の基礎発現量と内因性脂肪合成、ならびに脂肪組織での作用のバランスにより規定される。