







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 ⁶²⁸ 629 号	氏名	Susutlerpanya Warinda
審査委員会委員	主査氏名	柴田 洋孝	
	副査氏名	野村 勉	
	副査氏名	正木 孝幸	
<p>論文題目 Histological evaluation of nintedanib in non-alcoholic steatohepatitis mice (非アルコール性脂肪性肝炎モデルマウスにおけるニンテダニブの組織学的評価)</p> <p>論文掲載雑誌名 Life Sciences</p> <p>論文要旨 【目的】 肝硬変や肝細胞癌の進行に加えて、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)は肝移植の適応となっている。Nintedanib は臨床的には特発性肺線維症の治療に用いられているが、NASH モデル動物への影響は不明である。そこで本研究は、食餌性コリン欠乏メチオニン低減アミノ酸食(CDAHFD)による NASH モデルマウスに対する nintedanib の効果を検討することを目的として行った。</p> <p>【材料と方法】 雄 C57BL/6 マウスを CDAHFD にて 4 週間飼育して肝臓線維化を伴う NASH を誘導した。4 週の時点から 2 週間は、nintedanib (60mg/kg/日)または蒸留水を経口的に投与した。6 週後にマウスを sacrifice して、血清中の ALT, AST, ALP, トリグリセリド、非エステル化脂肪酸、cytokeratin 18 fragment (CK18)を測定した。また、肝組織を HE 染色および末 Masson's trichrome 染色にて脂肪肝炎および線維化の程度を評価した。</p> <p>【結果】 CDAHFD 飼育マウスでは、血清 ALT, AST, ALP 濃度がコントロールマウスと比べて高値であった。また、肝細胞死マーカーである血清 CK18 濃度も NASH 群でコントロール群と比べて高値を示した。nintedanib 投与により、これらの血清マーカーの有意な低下は認めなかった。</p> <p>CDAHFD マウスの肝組織は、コントロールと比べて脂肪肝炎および肝線維化が増加しており、nintedanib 投与により肝組織の炎症および NAFLD activity score が改善を認めた。</p> <p>【考察】 Nintedanib は CDAHFD 飼育 NASH マウスにおいて抗炎症効果と抗線維化効果を認めた。今回のプロトコールで行った CDAHFD 食を 6 週間投与したモデルでは、NAFLD activity score が十分に重症化しておらず、その結果として nintedanib による血清マーカーや肝組織の線維化の有意な改善が認められなかった可能性があるが、肝組織全体の線維化の面積の評価では nintedanib 投与群で有意な改善を認めており、今後はさらに長期間の nintedanib 投与の効果の評価が必要と考えられた。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 (課)・論	第 6-2-9 ⁶⁻⁸ 号	氏名	Susutlerpanya Warinda
審査委員会委員	主査氏名	柴田 洋孝	
	副査氏名	坂阿 勉	
	副査氏名	正木 孝幸	
<p><introduction></p> <ul style="list-style-type: none"> ・コリン欠乏メチオニン低減食で飼育するとどのような機序でNASHを発生するか。 ・NASHの遺伝的背景は知られているか。 <p><Materials and methods></p> <ul style="list-style-type: none"> ・nintedanibの投与量および投与期間はどのように決めたのか。 ・nintedanibの安全性、有害事象と生存率はどうかであったか。 ・nintedanib投与により、実際に肝組織におけるFGFR, VEGFR, PDGFRのチロシンキナーゼ活性の変化を測定したか。 ・NASHの病態生理でよく知られているインスリン抵抗性のマーカー、糖代謝は測定したか。 ・今回の実験は雄マウスで行っているが、性差はあるか。 ・高脂肪食単独群や通常食+nintedanib投与群は行っているか。 ・肝星細胞の正常肝における機能は何か。 <p><Results></p> <ul style="list-style-type: none"> ・原著論文に2カ所の誤表記(p.253 Table 2→Table 1, p.254 Table 2→Table 1)がある。 ・Fig. 1でNASH群で体重が増えなかったのはなぜか。摂食量、飲水量の変化はどうかであったか。 ・Fig. 2および3において肝酵素、TG, NEFA, CK18はNASHで増加したが、nintedanib投与により低下しなかったのはなぜか。 ・Fig. 4の肝組織所見でNASH群において脂肪蓄積や炎症、風船様変化を認めるが、線維化の所見が少ないのはなぜか。 ・Fig. 4の肝組織所見で、Mallory-Denk bodyは確認できたか。風船化の機序は何か。 ・Fig. 5Dでは相対的な線維化の程度がNASH群とnintedanib群で同程度にもかかわらず、Fig. 6では線維化領域の面積はnintedanib群で有意に減少しており、データの不一致はなぜか。 <p><Discussion></p> <ul style="list-style-type: none"> ・本実験では肥満がないNASHモデルに対して nintedanib が有効であったが、大多数のNAFLD患者は肥満、糖尿病、脂質異常症を呈するが、nintedanib は同様に有効と考えられるか。 ・nintedanib はアルコール性肝炎やウイルス関連肝炎モデルに対しても有効なのか。 ・nintedanib の肝臓に対する抗炎症効果、抗線維化効果の分子機構は何か。 ・ニンテタニブの肝臓への分子機序について推察はあるか。 ・今回の結果を踏まえ、今後どのような実験をやりたいか。 <p>以上の質問のように、実験プロトコルや考察にさらなる検討課題が指摘されたが、概ね適切に回答が行われたことから、医学博士修了に相応しいと判定された。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 Susutlertpanya Warinda

論 文 題 目

Histological evaluation of nintedanib in non-alcoholic steatohepatitis mice

(非アルコール性脂肪性肝炎モデルマウスにおけるニンテダニブの組織学的評価)

要 旨

Aims: In addition to potentially progressing to either cirrhosis or hepatocellular carcinoma, non-alcoholic steatohepatitis (NASH) is currently the leading indication for liver transplantation. Nintedanib has been clinically used to treat idiopathic pulmonary fibrosis for many years, but its effects in an animal model of NASH have not been tested. The purpose of this study was to evaluate the effects of nintedanib on NASH in cholinedeficient, L-amino acid-defined, high-fat diet (CDAHFD)-fed mice.

Main methods: Male C57BL/6 mice were fed a CDAHFD for 6weeks to induce NASH with liver fibrosis, and they were administered nintedanib (60mg/kg/day) or distilled water orally in the last 2weeks of the feeding period. Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), triglyceride, and non-esterified fatty acids concentrations were measured. Serum cytokeratin 18 fragment (CK18) was detected using ELISA. Liver tissue sections

