



Title	Novel Choline-Deficient and 0.1%-Methionine-Added High-Fat Diet Induces Burned-Out Metabolic-Dysfunction-Associated Steatohepatitis with Inflammation by Rapid Immune Cell Infiltration on Male Mice
Author(s)	坂口, 貴俊
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/103102
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	坂口 貴俊
論文題名 Title	Novel Choline-Deficient and 0.1%-Methionine-Added High-Fat Diet Induces Burned-Out Metabolic-Dysfunction-Associated Steatohepatitis with Inflammation by Rapid Immune Cell Infiltration on Male Mice (新規コリン欠乏0.1%メチオニン添加高脂肪食は、オスのマウスにおいて、急速な免疫細胞の浸潤による炎症を伴うBurned-out代謝機能障害関連脂肪肝炎を引き起こす)
論文内容の要旨	
〔目 的(Objective)〕 代謝機能障害関連脂肪性肝疾患（MASLD）は、肝臓への大滴性の脂肪蓄積を特徴とし、肥満及び2型糖尿病といった代謝異常関連疾患を合併することが多い。脂肪肝に加え、炎症と線維化を伴う場合は代謝機能障害関連脂肪肝炎（MASH）と呼ばれ、肝硬変や肝細胞癌へと進展する場合もある。MASHの罹患者数は世界的に増加しており、治療薬開発を目的とした多くの臨床研究が実施されているが、多くは有効性を証明できず失敗している。この原因の一つは、前臨床段階で候補薬剤の有効性を評価するための、ヒトMASHを反映した適切な動物疾患モデルが存在しないためである。そこで、我々はこれまで摂餌誘発性MASHモデルとして広く用いられていたコリン欠乏0.1%メチオニン添加高脂肪食（CDAHFD）の成分を一部改変することで新規MASH食を開発し、MASHのマウス病態モデルとしての有用性について検討した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 方法： SPF条件で飼育された5週齢の雄性C57BL/6Jマウスを用い、1週間の馴化後、ランダムに2群に分けた。Chow群には標準固形食（#CE-2、CLEA）、MASH群には改変CDAHFD食（MASH食、#OYC-NASH1、OYC）を与えた。給餌後0、1、2、4、8、12、24、48週で動物の体重を測定し、各時点で各種解析用サンプルを回収した。血液を用いて生化学分析を、肝組織を用いてリアルタイムPCR、ウェスタンブロット及び組織学的解析を行った。また、赤血球を除去した血球細胞と、肝組織からコラゲナーゼ消化後にパーコール処理による密度勾配遠心で単離した肝臓内に浸潤した免疫細胞を用いてCyTOF解析を行った。 結果： MASH群では、Chow群と比較して12週までは体重減少が5%未満に抑えられた。脂肪変性、肝細胞風船様変性及び実質炎症の程度を指標としたNAFLD Activity Score（NAS）のスコアリングにより、Chow群では給餌1週間後にスコア1の脂肪症が生じるのに対し、MASH群では1週間以内にスコア2の脂肪症が認められた。実際に脂肪滴面積の定量により、MASH群では給餌1週間後に10%以上、8週間後には30%の脂肪蓄積が観察された。一方、MASH群の脂肪蓄積は24週目以降で減少し、ヒトMASH患者においても報告されているBurned-out MASHへの進行が示唆された。また肝小葉炎症は給餌2週間後にスコア2を示し、48週間後まで持続した。炎症に伴うCD45陽性血球細胞の肝臓への集積は給餌1週間後から顕著に増加した。その中でも、特に顆粒球やマクロファージといった骨髄系細胞の肝臓内への浸潤が顕著に増加していた。NAS指標とは別に肝線維化及び肝障害についても検証した結果、肝線維化は給餌4週間後から観察され、線維化の指標であるコラーゲンの沈着面積は8週間後から有意に増加していた。さらに、肝障害マーカーであるASTとALTは給餌1週間後から増加し、以後全期間にわたって高値を示した。CDAHFDモデルではミトコンドリア機能障害が生じることが報告されている。特にPGC-1 α とPGC-1 β は、ミトコンドリア恒常性維持に関与し、栄養状態に応じて前者は糖新生と脂肪酸酸化を、後者は脂質合成、VLDL合成・分泌を促進する。肝組織におけるタンパク質発現解析の結果から、MASH群でPGC-1 α の発現は、給餌直後に減少し12週間後に増加に転じた一方、PGC-1 β は対照的な変化を示すことが明らかになった。 〔総 括(Conclusion)〕 本研究では肝臓における脂肪蓄積、炎症及び線維化の動態がヒトMASH患者の病態と類似している改良型MASH食を開発した。この新規MASH食は肝臓内への骨髄系細胞浸潤を伴う炎症を惹起し、従来のCDAHFDモデルよりも早期に肝線維化を誘導可能である。さらにヒトと類似したBurned-out MASHを示し、新規前臨床MASHモデルとして肝実質細胞と非実質細胞の相互作用も解析可能な本モデルは、ヒトMASHの病態メカニズムの解明および治療薬開発に資する。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 坂口 貴俊			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学特任教授	審 良 静 男 署 名
	副 査	大阪大学教授	山 本 雅 裕 署 名
	副 査	大阪大学教授	原、 英 二 署 名

論文審査の結果の要旨

代謝機能障害関連脂肪肝炎（MASH）は進行性肝疾患である。患者数は世界的に増加中だが、MASHを標的とした治験の多くは有効性を示せずに失敗している。これは前臨床試験での薬効評価に不可欠なヒトMASHを反映する疾患動物モデルの欠如に起因する。そこで申請者はマウスでMASHを誘発するコリン欠乏0.1%メチオニン添加高脂肪食（CDAHFD）を改良した新規MASH食を開発した。MASH食は肝臓における脂肪蓄積、炎症、線維化を1週目から誘発し、脂肪蓄積は8週目まで増加後に減少した。これはヒトburned-out MASHの表現型と一致する。一方で線維化は持続的に進行し、免疫細胞、特に骨髄由来細胞はMASH発症時に肝臓に集積し炎症を誘発した。以上の結果から、新規MASH食はヒトMASHと病態生理学的に類する特徴を有することが示され、本モデルが新たな前臨床評価モデルになり得ることが示唆された。本研究がMASH患者のアンメットメディカルニーズを満たす上で重要となる新たな非臨床マウスモデルを開発したという点は非常に評価に値する。

また質疑応答でも科学的に十分な知見を有していることが明らかであり、これらを踏まえた上で申請者は博士（医学）の授与に値する。