



Title	Lack of adiponectin promotes formation of cholesterol gallstones in mice
Author(s)	荻山, 秀治
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58160
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【31】

氏 名	荻山秀治
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学 位 記 番 号	第 24261 号
学 位 授 与 年 月 日	平成22年12月16日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Lack of adiponectin promotes formation of cholesterol gallstones in mice (アディポネクチン欠損はマウスのコレステロール胆石形成を促進する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 下村伊一郎 (副査) 教授 土岐祐一郎 教授 金倉 譲

論文内容の要旨

〔目的〕

胆石症は消化器領域において年齢とともに保有率が増加する頻度の高い疾患であ

る。胆石は大きく分けてコレステロール結石とビリルビン結石に分けられ、日本では近年コレステロール結石が増加し胆石の過半数以上を占めるようになっている。胆石発生のリスクファクターとして年齢、女性、人種、遺伝子異常に加え、インスリン抵抗性に関する肥満、糖尿病が関係することが知られている。これらインスリン抵抗性を有する患者は近年急速に増加している。アディポネクチンは脂肪組織から分泌される生理活性物質で血清アディポネクチン値は肥満度と逆相関し、肥満者で低値である。低アディポネクチン血症はインスリン抵抗性とメタボリックシンドロームを増悪させることが知られている。近年、ヒトのコレステロール胆石の発生と血清アディポネクチン値の間に負の相関関係があることが報告されている。しかし、胆石発生過程においてアディポネクチンがどのように作用するかはまだ不明である。そこで私は、アディポネクチンの胆石形成への関与を明らかにすることを目的として研究した。

〔方法ならびに成績〕

アディポネクチンノックアウトマウス(KO)とコントロールマウス(WT)に胆石生成食(15% cocoa butter fat, 1.25% cholesterol, 0.5% cholic acid)と通常食を投与し胆石発生率と胆石形成の機序を検討した。通常食では胆石発生はKOマウス、WTマウスいずれにおいても認められなかつたが、6週間胆石生成食投与後の胆石発生率はKOマウスで有意に高値を示した(42% vs 19%, p<0.05)。形成された胆石の主要成分はコレステロールであった。胆石形成に重要な因子である胆汁中のコレステロール、胆汁酸、リン脂質の濃度は両者で差を認めなかつた。以下に示す4つの機序によりKOマウスで胆石発生が増加しているものと考えられた。1) 胆汁中の胆汁酸組成は、通常食投与下で臨界ミセル濃度が高い β ムリコール酸の濃度がWTマウスに比しKOマウスで高値を示した。臨界ミセル濃度が高い胆汁酸はコレステロールの結晶形成を促進することが知られており、胆石形成の原因の一つと考えられた。胆汁酸合成律速酵素の一つであるcyp8b1はコレ酸/ムリコール酸の比を決定するcyp8b1の発現がmRNAレベルと蛋白レベル両者においてKOマウスで低下を認め、ムリコール酸増加の原因と考えられた。また、cyp8b1の遺伝子転写を正に制御するとされるppar- α のmRNA発現量も胆石生成食投与下のKOマウスで低下していた。2) 胆汁中のapoA-Iは胆石形成を抑制することが報告されているが、その濃度はKOマウスで低下を認めた。3) 胆囊壁の炎症が胆石形成を促進することが知られている。胆囊壁の炎症の程度を表すPLA2のmRNA発現量はKOマウスで増加を認めた。胆囊のマクロ像では胆石生成食投与下においてKOマウスでのみ透光性の低下した胆囊を認め(46匹中12匹)、胆囊壁の肥厚を反映していると考えられた。そしてこれらの胆囊の多くで胆石が形成されていた(12匹中8匹)。胆囊は組織学的には、HE染色においてKOマウスでより胆囊壁の肥厚とPAS染色において胆囊上皮にKOマウスで糖蛋白

白の増加を認めた。胆囊壁の炎症により胆囊壁のムチンなどの糖蛋白が増加し胆石形成が促進されることが言われており、今回の検討においても胆囊壁の炎症が胆石形成の一因となっていることが考えられた。4) 胆石生成食投与でKOマウスにおいて血中インスリン値、インスリン抵抗性を示すHOMA-IRがWTマウスに比べ有意に高値であった。マウスでは肝臓のインスリン抵抗性増強によりコレステロール胆石形成が促進することが報告されており、今回の検討でもインスリン抵抗性の胆石形成への関与が想定された。

胆汁酸組成の変化については *in vitro* の実験においても検討を行った。肝癌細胞株である HepG2 細胞株を用いメディウム中へのアディポネクチン ($10 \mu\text{g/ml}$) 24 時間添加の有無の条件下で PPAR- α 、cyp8b1 の mRNA 発現量を評価した。*In vivo* と同様にアディポネクチン添加により PPAR- α 、cyp8b1 の mRNA 発現量の増加が認められた。

〔 総 括 〕

マウスにおいてアディポネクチン欠損が、胆石形成促進に関与していることが示された。その機序として、1) 胆汁中胆汁酸組成の変化（ムリコール酸の増加）、2) 胆汁 apoA-I 蛋白の低下、3) 胆囊壁の炎症の増悪、4) インスリン抵抗性の増悪が考えられた。

論文審査の結果の要旨

肥満者で胆石発生が多いことが疫学的に知られ、近年ヒトにおいてコレステロール胆石の発生と血清アディポネクチン値の間に負の相関関係があることが報告された。しかし、胆石発生におけるアディポネクチンの役割はこれまで明らかにされていない。本研究ではアディポネクチン欠損マウスと野生型マウスに胆石生成食を投与して胆石発生率と胆石発生の機序を検討した。6週間胆石生成食投与後の胆石発生率はアディポネクチン欠損マウスで有意に高値を示した。胆汁中の胆汁酸組成では臨界ミセル濃度が高いムリコール酸の濃度が野生型マウスと比較してアディポネクチン欠損マウスで高値を示した。さらに、アディポネクチン欠損マウスで胆石形成に抑制的に働く胆汁中の apoA-I 蛋白の低下、胆囊壁の炎症の増悪も認めた。これらの要因が複合的にアディポネクチン欠損における胆石形成に関与しているものと考えられた。

本研究は胆石形成におけるアディポネクチンの重要性を明らかにし、その胆石形成促進機序の解明につながる研究であり、学位の授与に値すると考えられる。