

Title	Major role of apolipoprotein B in cycloheximide-induced acute hepatic steatosis in mice
Author(s)	村上, 真理
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59034
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	むら かつみ まり 理 村 上 真 理
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学位記番号	第 24842 号
学位授与年月日	平成23年6月20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	Major role of apolipoprotein B in cycloheximide-induced acute hepatic steatosis in mice (シクロヘキシミド誘導性マウス急性脂肪肝におけるアポリポ蛋白Bの役割)
論文審査委員	(主査) 教 授 大 菌 恵 一 (副査) 教 授 薬 木 宏 実 教 授 下 村 伊 一 郎

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

小児期では、感染を契機として、急性可逆性の肝機能障害、蛋白合成能の低下、脂肪肝を呈する症例を経験することがある。これらの患者では血液凝固因子以外のrapid turnover protein の低下も認められており、このことが 様々な病態の形成に関与している可能性が考えられる。

今回、我々は、急性の蛋白合成阻害によって肝臓で誘導される病態を明らかにすることを目的に、モデル動物を作成し、その病態と分子学的機序について検討を行った。

[方法ならびに成績]

C57/BL6マウスに蛋白合成阻害剤であるシクロヘキシミド(CHX) 20 mg/kgを計3回4時間毎に腹腔内投与した。蛋白合成能の指標として肝臓への[4, 5-³H]-leucine取り込み率を測定したところ、CHX初回投与1時間後と3回投与終了1時間後においてそれぞれ投与前の32 ± 13 % と55 ± 12 % であり、有意に低下していたが、初回投与から24時間後には158 ± 15 % にまで回復した。CHX投与開始後24時間後の肝組織脂肪染色では肝細胞内にびまん性の微小脂肪滴の沈着を認め、投与開始24時間後の肝内トリグリセロール (TG) 含有量は、CHX投与群ではCHX非投与対照群 (Cont) に比して1.80 ± 0.65倍の有意な上昇を認めたが、48時間後にはContと同等のレベルにまで低下した。このモデルマウスにおいてリポ蛋白リパーゼ阻害剤を用いて肝臓からのTGの分泌率を測定したところ、CHX投与群において投与開始後8時間でContの22.4 ± 6.7 %と有意な低下が認められ、その後徐々に回復傾向となり、48時間後にはContと同等のレベルまでの回復が認められた。そこで、ウェスタンブロット法による解析にて肝脂質分泌を担う主要分子であるmicrosomal triglyceride

transfer protein (MTP)とアポリポ蛋白B (apo B)の発現について検討したところ、MTPの発現にはCHX投与群とCont間で発現レベルに差は認められなかったが、apo Bの発現はapo B100、apo B48ともにCHX投与開始4時間よりCHX群において著明な低下を呈し、投与開始20時間頃より徐々に回復の傾向が認められた。apo Bの蛋白発現の推移はTG分泌率のそれと経時的に一致していた。リアルタイムPCR法による解析では、CHX投与群とCont群間でapo B、MTPともにmRNA発現レベルには有意差を認めなかった。一方、脂肪合成系酵素であるFatty acid synthase (FAS)とAcetyl-CoA Carboxylase (ACC)の発現についてウェスタンブロット解析により検討したところ、両者ともにCHX投与群とCont間で発現レベルに差を認めなかった。また、肝臓への脂肪酸の流入や脂肪酸酸化能の指標としてそれぞれ血清の脂肪酸値とケトン体値を測定したが、両者ともにCHX投与群とCont間で有意差は認めなかった。次に、HepG2細胞にCHXを添加し培養を行った。ウェスタンブロット解析ではCHX添加群においては非添加群に比してapo Bの発現の低下を認めたが、MTPの発現については両群間で差を認めなかった。また、培養上清中に分泌されたapo B濃度をELISA法で測定したところ、CHX添加群は非添加群の59 ± 25%と低下しており、有意差を認めた。さらに、細胞内のTG含有量はCHX添加群では非添加群に比して2.2 ± 1.1 倍と有意な上昇が認められた。HepG2細胞においてapo Bのノックダウンを行った実験では、negative control siRNAを導入した群と比較し、apo B siRNAを導入した群では有意に細胞内TG含有量の上昇(1.65 ± 0.3 倍)が認められた。

〔 総 括 〕

マウスへのCHX腹腔内投与によって急性一過性の脂肪肝が形成された。この脂肪肝の生成には、急性の蛋白合成阻害によって誘導されるapoBの低下によって 肝臓からの脂質分泌が低下することが主要な役割を果たしていると考えられた。 CHX投与によるapoBの特異的低下は、本研究で検討した他の蛋白と比較して、細胞内におけるapoBのturnover rateが高いという性質を反映したものと考えられた。 ヒトの病態においても蛋白合成能の急激な低下自体が急性脂肪肝を誘導する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

小児期では、急性可逆性の肝機能障害、蛋白合成能の低下、脂肪肝を呈する症例があるが、これらの患者では蛋白合成能の低下そのものが様々な病態の形成に関与している可能性が考えられる。 本研究では急性の蛋白合成阻害によって肝臓で誘導される病態を明らかにすることを目的に、マウスに蛋白合成阻害剤であるシクロヘキシミド(CHX)を投与し、その病態と分子学的機序について検討を行った。マウスへのCHX投与によって急性一過性の脂肪肝が形成されたが、これは急性の蛋白合成阻害によって誘導されるapoBの低下によって 肝臓からの脂質分泌が低下することが主要な要因であると考えられた。 CHX投与によるapoBの特異的低下は、本研究で検討した他の蛋白と比較して、細胞内におけるapoBのturnover rateが高いという性質を反映したものと考えられた。この結果はヒトにおいても蛋白合成能の急激な低下自体が急性脂肪肝を誘導する可能性を示唆するものであり、ヒトの病態を把握する上で重要な結果であると考えられた。よって本研究は学位に値すると考えられる。