HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Undernourishment in utero primes hepatic steatosis in adult mice offspring on an obesogenic diet; involvement of endoplasmic reticulum stress

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2017-02-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 加藤(村松), 慧子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3002

博士（医学）　　加藤（村松）　慧子

論文題目

Undernourishment *in utero* primes hepatic steatosis in adult mice offspring on an obesogenic diet; involvement of endoplasmic reticulum stress

（子宮内低栄養は肥満誘発餌により成獣期のマウス産生仔の肝脂肪変性を誘発する; 小胞体ストレスの関与）

論文の内容の要旨

［はじめに］

非アルコール性脂肪性肝疾患 non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) はメタボリックシンドロームの肝での表現型とされており、肝機能障害の主要な原因である。我が国の NAFLD 罹患率は、この 10 年で約 2 倍となっている。しかしながら、その自然史は明らかでない。近年、ヒトや動物実験から、胎児が低栄養環境に曝されると、成長後に NAFLD 発症リスクが増加することが報告されている。一方、肝脂肪変性の進行に、小胞体ストレスが重要な役割を果たすことが明らかとなってきている。小胞体ストレス応答は肝脂肪変性の重症度を反映する指標であり、予防や治療の有用な標的として注目されている。しかし、胎生期の低栄養と小胞体ストレスの関わりは明らかでない。そこで我々は、胎生期低栄養環境が成長後の肝臓において、小胞体ストレスを増強し、肝脂肪変性を増悪させるという仮説を想定し、マウスモデルを用い、その検証を行った。

［材料ならびに方法］

施設内動物実験委員会承認の下 (H20-014)、C57BL/6 妊娠マウスを自由摂餌 *ad libitum* 群 (AD 群) と摂餌制限 caloric restriction 群 (CR 群) に分けた。摂餌制限群の母獣へ妊娠 11.5 日から 17.5 日まで自由摂餌群の摂餌量を 40%減量したものを与え、胎生期低栄養とした。生まれたオスを対象とし、9 週齢から 22 週齢まで脂肪を 60%含んだ高脂肪餌を負荷した。以下 3 つのコホートを行った。

(コホート 1) 9 週齢、AD 群と CR 群における高脂肪餌負荷前の肝脂肪変性と小胞体ストレス応答を検討した。(コホート 2) 17 週齢、AD 群と CR 群における高脂肪餌負荷後の肝脂肪変性、小胞体ストレス応答を検討した。(コホート 3) 17 週齢から 22 週齢に小胞体ストレスを緩和するケミカルシャペロンであるタウロウルソデオキシコール酸 tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) を投与し (以下 TU 群)、22 週齢での肝脂肪変性と小胞体ストレス応答を対照 vehicle 群 (Veh 群) と比較検討した。

各コホートにおいて NAFLD の指標である肝脂肪変性を評価するため、9 週齢、17 週齢、22 週齢の肝重量、肝重量/体重比を算出、肝トリグリセリド含有量を測定した。また、HE 染色、ピクロシリウスレッド染色にて組織学的に NAFLD 重症度を評価した。

各コホートでの小胞体ストレスを評価するため、9 週齢、17 週齢、22 週齢の肝臓における小胞体ストレス応答の主要なマーカーを測定した。XBP1s/XBP1u 遺伝子発現を定

量 PCR 法で、p-IRE1α/IRE1α、p-eIF2α/eIF2α、CHOP、GRP78 タンパク発現をウエスタンブロット法にて測定した。

［結果］

(コホート 1) 胎生期低栄養は高脂肪餌負荷前の 9 週齢では、肝脂肪変性や小胞体ストレス応答に影響を与えなかった。AD 群と CR 群間で、肝重量、肝重量/体重比とも有意な差はなく、HE 染色では両群とも肝細胞への脂肪蓄積を認めなかった。両群とも NAFLD 様変化を認めなかった。小胞体ストレスを反映する p-IRE1α/IRE1α、p-eIF2α/p-eIF2α、CHOP、GRP78 タンパク発現も両群間で有意な差を認めなかった。

(コホート 2) 胎生期低栄養は高脂肪餌負荷後の 17 週齢では、肝脂肪変性を有意に悪化させ、小胞体ストレス応答を有意に増悪させた。AD 群と比較し CR 群において、肝重量、肝重量/体重比は有意に増加し、肝トリグリセリド含有量は有意に高値を示した。CR 群では肉眼的に脂肪肝様肝腫大と HE 染色で肝細胞への著明な脂肪蓄積を認めた。AD 群と比較し、CR 群で NAFLD の増悪を確認した。小胞体ストレスを反映する XBP1s/XBP1u 遺伝子発現、p-IRE1α/IRE1α、p-eIF2α/eIF2α、CHOP タンパク発現はいずれも CR 群にて有意な亢進を認めた。

(コホート 3) TUDCA 投与は、胎生期低栄養群において、肝脂肪変性や小胞体ストレス応答を有意に改善させた。CR-Veh 群と比較し CR-TU 群で、肝重量、肝重量/体重比、肝トリグリセリド含有量は有意な改善を認めた。HE 染色や肉眼的所見は、CR-Veh 群に比べ CR-TU 群で脂肪肝の改善を認めた。AD 群では有意な変化を認めず、CR-TU 群でのみ NAFLD の改善をみた。小胞体ストレスを反映する XBP1s/XBP1u 遺伝子発現、p-eIF2α/eIF2α、CHOP タンパク発現は CR-Veh 群に比べ CR-TU 群で有意な改善を示した。いずれも AD 群では有意な変化を認めなかった。

［考察］

今回のマウスモデルにおいて、胎生期低栄養群では、高脂肪餌負荷後の肝重量、肝重量/体重比、肝トリグリセリド含有量は増加し、肝脂肪変性の有意な増悪が観察された。また、p-IRE1α/IRE1α、p-eIF2α/eIF2α、CHOP タンパク発現の亢進を認めた。よって、胎生期低栄養が NAFLD 発症に関与することが明らかとなり、その一因として小胞体ストレス応答の関与が考えられた。次に、胎生期低栄養環境に続く NAFLD 発症に小胞体ストレスが関与することを検証するため、TUDCA 投与による小胞体ストレス緩和実験を行った。投与後、胎生期低栄養群でのみ小胞体ストレスマーカーの有意な改善を認め、肝脂肪変性も有意に改善した。しかしながら、母獣が通常の栄養を摂取した群では両者とも改善を認めなかった。すなわち、胎生期低栄養に続く NAFLD 増悪の一因として小胞体ストレスの関与が考えられた。今回の結果は、我が国の NAFLD 罹患率上昇を説明する一助となり、そして胎生期低栄養を経た NAFLD 患者の治療戦略として、TUDCA と同様の作用を持つケミカルシャペロンである玄米食などが提案できるのではないかと考えられた。

［結論］

今回の動物実験より、子宮内低栄養に続く小胞体ストレス亢進が、その後の肝脂肪変性の発症に関与している可能性が示唆された。