




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第458号	氏名	井上 恵
審査委員会委員	主査氏名	仁木 一 行	
	副査氏名	岸 谷 友 久	
	副査氏名	松尾 哲 孝	
論文題目			
<p>Involvement of remnant spleen volume on the progression of steatohepatitis in diet-induced obese rats after a splenectomy (過栄養性脂肪肝から脂肪肝炎への進展過程における脾臓温存の意義)</p>			
論文掲載誌名 : Hepatology Research, in print			
<p>論文要旨 肥満は単なる体内への蓄積ではなく、全身の慢性の炎症を引き起こすことが明らかにされており、その様々な影響が注目されている。一方、脾臓はマクロファージやBリンパ球を内蔵する免疫組織である。本研究では、脾臓を全摘出、あるいは半摘出したラットに高脂質食を食べさせて肥満状態を誘発し、脂肪性肝疾患の程度を血清生化学的に、あるいは組織学的に検討した。その結果、摘出した脾の容積が大きい(すなわち残された脾臓機能が低い)ほど脂肪肝炎の進行が強く、血中のトリグリセリドや遊離脂肪酸はより高く、ALTの値も高く、形態学的にも組織像のより強い変化が認められた。肝臓の組織像では、脾摘群で強い脂質の沈着が見られ、その病態の悪化と摘出した脾の容積との間、さらにはCD68の染色で評価した活性化クッパー細胞の数およびCD68の発現にも同様の相関が見られた。肝の炎症性サイトカインの発現は脾摘群で上昇しており、脾臓(または残脾)でもこれらのサイトカインの発現は脾摘群で高く、反対に抗炎症性サイトカインであるIL-10の発現は低下していた。4-HNEで検討した酸化ストレスレベルは、脾摘を行った肝臓で高く、肝臓のTNF-αやIL-1βも同様の上昇が見られた。これとは対照的に、肝臓のIL-10レベルは脾摘群で低かった。これらの結果から、申請者たちは、脾摘後の脂肪肝から脂肪肝炎への悪化が、脾摘による脾臓由来のマクロファージの減少が肝臓におけるクッパー細胞の活性化を惹起し、その結果病態が進行することによって起こると推察している。</p>			
<p>この研究は、脾臓の持つ免疫機能が肝臓の脂質代謝に及ぼす影響を検討したものであり、その価値を考慮し、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 井上 恵

論 文 題 目

Involvement of remnant spleen volume on the progression of steatohepatitis in
diet-induced obese rats after a splenectomy

(過栄養性脂肪肝から脂肪肝炎への進展過程における脾臓温存の意義)

要 旨

【緒言】脂肪性肝疾患を含むメタボリック症候群の発症には、肥満が有する“慢性炎症状態”が深く関与しているとされ、メタボリック症候群と免疫との関係が注目されている。脾臓は生体内の主要な免疫臓器であり、肝臓と門脈を介して密接な関係にある臓器であるにもかかわらず、脂肪性肝疾患における脾臓の役割については明らかとされていない。そこで、本研究では脾臓を全摘出、部分摘出した高脂肪食誘導性肥満ラットを用い、脂肪性肝疾患とその進展過程における脾臓の関与について検討した。

【研究対象及び方法】まず8週齢雄性SDラットに60%高脂肪食を4週間給餌して過栄養性脂肪肝ラットを作成した。＜実験1＞過栄養性脂肪肝ラット(n=15)を全脾臓摘出群(T-SPX)と部分的(半)脾臓摘出群(H-SPX)、シャム手術群(Sham)に分けてそれぞれ脾臓手術を行った。術後も60%高脂肪食給餌を継続し、脾臓手術から12週目に血液採取・臓器を摘出した。採取した血液で血中脂質マーカー(中性脂肪、遊離脂肪酸、総コレステロール値)と血清alanine aminotransferase(ALT)を測定した。次に、HE染色にて摘出肝臓の組織学的変化を観察し、肝臓内中性脂肪(TG)含有量を測定して肝臓の脂肪化を評価した。

同じく、摘出肝臓における Kupffer 細胞数の変化を CD68 免疫染色と western blot 法にて評価するとともに、組織中の炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1) 含有量を ELISA 法で測定した。さらに、Sham 群と H-SPX 群の残存脾臓における炎症性 (TNF- α 、IL-1 β)・抗炎症性 (IL-10) サイトカイン濃度を測定した。<実験 2> 過栄養性脂肪肝ラット (n=20) に脾臓全摘出術 (SPX 群: n=10) とシャム手術 (Sham 群: n=10) を行い、さらに術後 12 週間高脂肪食給餌を行う群 (12W 群) と 24 週間給餌を行う群 (24W 群) のサブグループにわけた。実験終了後、肝臓を摘出し、肝組織中の TG 含有量および炎症性サイトカイン濃度を測定し、HE 染色法にて肝臓の組織学的変化を比較した。

【結果】 <実験 1> 高脂肪食誘導性肥満ラットにおいて、脾臓摘出は肝臓の脂肪蓄積を増加させ、炎症を惹起した。この変化は残存脾臓の容積と相関を示し、残存脾臓容積が小さくなるほど肝臓の脂肪化および炎症性変化は悪化していた。同様の変化は血中 TG、遊離脂肪酸値にもみられた。また、残存脾臓内のサイトカイン濃度は、H-SPX 群で Sham 群のそれと比較して有意な炎症性サイトカイン濃度の上昇、抗炎症性サイトカイン濃度の低下を認め、その比でみたサイトカインバランスは炎症に極性を示した。<実験 2> 脾臓摘出後 12 週目の肝臓で観察される過栄養性脂肪肝から脂肪肝炎への進展は、術後 24 週間経過するとさらに悪化していた。肝臓内の脂肪蓄積は有意に増加し、また炎症所見も悪化傾向を示した。

【考察】 脾臓摘出術後の残存脾臓容積と残脾の機能が負の相関を示すという既報に基づき、脾臓部分 (半) 摘出ラットを用いて、脾臓機能低下状態が過栄養性脂肪肝へ与える影響を検討した。本研究において、残脾容積と脂肪肝炎の進行度とは負の相関を認め、残脾容積の減少に伴って肝脂肪化は増強し、肝炎は悪化していた。さらに、脾臓機能の低下がもたらす脂肪肝から脂肪肝炎への進展は、時間経過と共に増悪していることも示された。この脾臓摘出後の脂肪肝炎進展が生じた理由のひとつとして、脾臓摘出により脾臓由来マクロファージの肝臓への供給が減少するため、代償的に肝臓マクロファージである Kupffer 細胞が増加し、肝免疫が賦活化されたことが推測される。

【結語】 脾臓機能の低下が、過栄養性脂肪肝から脂肪肝炎進展をきたす一因子となりうる可能性が示唆された。