

氏 名	あら い なおし 荒 井 道
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	甲第 650 号
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 23 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	プロバイオティクスが NASH および NASH 発癌に与える影響
論 文 審 査 委 員	（委員長） 教 授 崔 龍 洙 （委 員） 教 授 村 田 一 素 准教授 海老原 健

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）はメタボリックシンドロームの肝での表現型であり、肥満人口の増加とともに臨床的な重要性が増している。特に NAFLD における肝線維化、肝発癌は予後を左右する重要な合併症であり、これらへの有力な治療法は臨床的に重要である。しかしながらこれまでの動物モデルでは線維化、発癌まで評価を行うためには制限が多く、Probiotics が有用であるか十分な検討がなされていなかった。当研究室の所有する肝細胞特異的 PTEN KO(以下 PTEN KO)マウスはヒト NAFLD の自然史と同様に脂肪肝、肝障害、線維化、発癌を来す動物モデルである。この動物モデルを使用し、Probiotics が NASH および NASH 発癌に対してどのような影響を与えるか研究した。

### 2 研究方法

Alb/Cre 陰性 Pten flox/flox マウスおよび PTEN KO マウスにそれぞれ標準食および動物用飲用水を自由摂取させた。介入群には動物用飲用水として Probiotics 懸濁水(4 g/l)を 40 週間投与した。回収後、脂肪性肝障害、肝線維化、肝腫瘍形成、酸化ストレスについて評価を行った。

### 3 研究成果

プロバイオティクスは、血清トランスアミナーゼ値、NAFLD 活動スコア、TNF $\alpha$  などの炎症性サイトカインの遺伝子発現を低下させた。また、プロバイオティクスは、シリウスレッド染色による肝線維化の程度や TIMP-1 の遺伝子発現を低下させた。さらに、プロバイオティクスは肝腫瘍の発生を抑制した。プロバイオティクスは、抗酸化ストレスマーカーであるグルタチオンレベルを回復させ、これがプロバイオティクスの有益な効果の根本的なメカニズムであると考えられた。

### 4 考察

本研究では PTEN KO マウスに対する Probiotics 投与の効果を検証した。NAFLD に見られる肝障害、炎症、線維化、そして肝発癌それぞれに対する Probiotics の効果を分析し、Probiotics

はいずれに対しても有効であることが確認できた。ヒト NAFLD の自然史を模倣する動物モデルを用いて、かつ肝発癌まで含めて Probiotics の有効性を確認したのは筆者の知る限り今回が初めてである。また Probiotics により酸化ストレスの低減を確認でき、これまでの NAFLD への Probiotics 投与に関する研究と同様のメカニズムによる効果であることが示唆された。NAFLD における肝線維化、発癌は予後を左右する重要な合併症であり、Probiotics は NAFLD の予後を改善する効果が期待できる。

## 5 結論

Probiotics は酸化ストレスを軽減し肝臓特異的 PTEN KO マウスの NASH、NASH 発癌を抑制した。PTEN KO マウスはヒト NASH の自然史を模倣するマウスであり、臨床においても Probiotics が有用である可能性がある。

## 論文審査の結果の要旨

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は、肝硬変や肝臓ガン、肝不全に進行する予後が悪い肝疾患である。現在、NAFLD の進行型である非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) に対する有効な治療薬はない。本学位論文では脂肪性肝炎および肝がんを呈する NASH マウスモデル (PTEN KO) を用いて、プロバイオティクスによる抗炎症および抗発がん効果を観察した。本研究で使用したプロバイオティクス (THT Mix 20 strains) は、肝脂肪蓄積に明らかな変化をもたらすことなく、肝障害や炎症、線維化、発癌を抑制することが明らかとなった。今までに、NASH マウスモデルを用いてプロバイオティクスの肝脂肪化、肝炎抑制効果が報告されているが肝線維化、肝発がんに対する効果の報告がない点で、本研究の新規性や進歩性を含む学問的な意義は認められる。但し、一口にプロバイオティクスと言っても多種多様であり、今回使用したプロバイオティクス (THT Mix 20 strains) の有効成分については不明であり、今回認められた効果をプロバイオティクスに一般化することには更なる研究が必要である。また、プロバイオティクスがスマウス肝内 TNF- $\alpha$ , IL- $\alpha$ , CCL2 の発現を抑制し、肝内総グルタチオン濃度を回復するが、これは、直接的な証明ではないことに留意する必要がある。

本研究は、研究目的が明確である。実験の計画も合理的で、データの解析は妥当であり、総合的に博士論文としての基準に達していると判断できる。また、学位論文に関する審査委員の指摘に対して丁寧に対応しており、2度の修正を重ね、最終的にかなり改善された論文が提出されている。

以上の理由と審査修正の過程を経て、全審査委員が一致して、学位論文として相応しいものと判断した。

## 最終試験の結果の要旨

最終試験では、申請者荒井道氏に対して、本研究の着想に至った背景と仮説、その仮説に答えるために研究に用いた材料・方法の妥当性と限界、得られた結果と解釈、及び考察について発表、口頭試問を実施した。

申請者の発表は、大凡まとまっており理解できたが、その考察は申請者の実験結果に基づくものではなく、一般論に偏る傾向があった。プロバイオティクスの効果機序についても過去の報告があるのであれば、申請者が用いたモデルにおいて証明すべきであったが、同研究を継続すること、発展を期待したい。

総合的に、荒井道氏は審査委員からの質問に対して適切に答え、研究全般及び関連情報について十分に理解していることが確認された。また、論文修正意見に対する適切な対応や研究内容の発表と質疑応答を通して一貫して自信をもった態度で、丁寧に臨んでいたことは、申請者自身が主体的に本研究を遂行したことを示すものである。

以上から、審査の結果は合格と判定した。