

京都大学	博士（医学）	氏名	城原 幹太
論文題目	Whey-hydrolyzed peptide-enriched immunomodulating diet prevents progression of liver cirrhosis in rats (加水分解ホエイペプチド高含有免疫調整栄養食による、ラット肝硬変進展の抑制効果)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>目的) ホエイペプチド(WHP)は牛乳に含まれる主要なペプチドの一つであるが、免疫調整栄養 diet (IMD)の成分として臨床で広く使用されている。また実験モデルで、薬剤性急性肝障害抑制効果や抗炎症作用、抗酸化作用が報告されているが、肝線維化、肝硬変進展への効果は明らかではない。そこで、dimethylnitrosamine (DMN) 誘発ラット肝硬変モデルを用いて WHP の肝線維化・肝硬変の進展を抑制する効果、ならびにその機序を検討した。</p> <p>方法) DMN 誘発ラット肝硬変モデルに WHP 高含有 IMD(WHP diet)を与えたモデルで検討した。chronic phase モデル: SD ラットに WHP diet または WHP 非添加対照 diet (Control diet) を摂取させ、DMN を連続 3 日間 3 週腹腔内投与し、その 2 週間後に犠死を行った。acute phase モデル: chronic phase モデルと同様の処置で実験を開始し、DMN 投与 1 週目に犠死を行った。in vitro 実験: ラットに in vivo 実験同様に餌を摂取させた後、それぞれの肝細胞を分離培養し、DMN 添加による肝細胞障害を、PI 比 (PI 染色陽性細胞/Hoechst 33342 染色陽性細胞) にて比較検討した。結果) DMN 誘発ラット肝硬変モデル(chronic phase)において、WHP を投与した群では肝硬変や腹水貯留の頻度および、組織所見において線維化が著明に抑制された。また血中ヒアルロン酸値、肝組織の α-SMA 染色陽性領域、ヒドロキシプロリンも有意に低値であった。また chronic および acute phase モデルにおいて WHP を投与した群で、肝組織中の MDA は有意に抑制され、Glutathione は有意に高値であり ROS の抑制が示唆された。Acute phase において WHP を投与した群で、血中の肝酵素値、炎症性サイトカインである TNF-α および IL-10 値は有意に低値であった。In vitro 実験: DMN 添加に対して WHP diet を与えた群は、有意に PI 比が低値であり肝細胞障害が抑制されていることが示唆された。考察) 本実験により DMN 誘発ラット肝硬変モデルにおいてホエイペプチドによる肝線維化、肝硬変進展抑制効果が初めて示された。またその機序として、in vitro や Acute phase モデルの結果からホエイペプチドの肝細胞保護効果が示唆された。また、DMN は肝臓で代謝され、ROS を惹起して肝細胞障害が生じると報告されているが、ホエイペプチド投与により有意に ROS は低下した。また In vivo の追加実験として、ホエイペプチドに TNF-α inhibitor である pentoxifylline (PTX) を併用したが、肝細胞障害が軽減しなかったことから、ホエイペプチドの肝線維化抑制効果は、肝線維化の発生初期段階で生じる肝細胞障害を抑制することに依存している可能性が示唆された。以上よりホエイペプチドにより、Glutathione を介した ROS 産生抑制の結果、肝細胞障害が軽減され、線維化・肝硬変の発症を抑制したと考えられる。</p> <p>結論) 加水分解ホエイペプチド含有 IMD による、ラット DMN 肝硬変進展の抑制効果を報告した。機序として、ホエイペプチドの ROS 産生抑制による肝細胞保護効果が考察された。今後、WHP 含有 IMD による臨床での肝硬変発症抑制効果が期待される。また現在、同効果のさらなる機序解明のため in vitro で WHP による肝非実質細胞の動態を検討中である。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

肝線維化は様々な肝障害、炎症の結果誘発され、肝硬変、肝不全と進展し、致命的な転帰をきたす。一方ホエイペプチド(WHP)は牛乳に含まれる主要ペプチドの一つで、WHP 高含有免疫調整栄養食が近年臨床で使用され、抗炎症作用が報告されている。申請者はジメチルニトロサミン(DMN)誘発ラット肝硬変モデルを用いて WHP の肝線維化・肝硬変の進展を抑制する効果・機序を解析・検討した。WHP 群では、肉眼、血液生化学、組織所見において肝線維化・肝硬変への進展が著明に抑制された。メカニズムの検討のため、ラット初代肝細胞培養を用いたモデルで検討し、WHP により肝細胞障害が抑制されていることが示唆された。急性肝炎・肝硬変モデルで、WHP 群で肝組織中の MDA は有意に抑制され、Glutathione は有意に高値であり、WHP による酸化ストレスの抑制が示唆された。

本研究は、ホエイペプチドの肝線維化・肝硬変進展の抑制効果と作用機序の検討に貢献し、臨床で汎用されている WHP 高含有免疫調整栄養食の様々な肝障害、肝炎への応用の基礎実験として位置づけられ、肝障害、肝線維化克服の臨床応用に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成26年6月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日: 年 月 日以降