

京都大学	博士 ( 医 学 )	氏 名	西 尾 太 宏
論文題目	<b>Hepatic vagus nerve regulates Kupffer cell activation via <math>\alpha 7</math> nicotinic acetylcholine receptor in nonalcoholic steatohepatitis</b> (肝臓迷走神経は非アルコール性脂肪性肝炎において $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体を介して Kupffer 細胞の活性化を制御する)		
(論文内容の要旨) <b>【背景と目的】</b> 非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis; NASH) において, Kupffer 細胞の活性化による肝臓の炎症惹起がその病態の進展に中心的な役割を担う. 一方, 迷走神経の遠心性シグナルが, 免疫細胞に対して $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体 ( $\alpha 7$ nAChR) を介した抗炎症作用を持つことが知られている. 本研究では, 肝臓迷走神経が $\alpha 7$ nAChR を介して Kupffer 細胞の活性化を制御し, NASH の進展に対して抑制的に働くという仮説に基づき, 動物実験による検証を行った. <b>【方法】</b> C57BL/6 野生型 (WT) マウスに対して, 迷走神経肝枝切離 (HV) または sham 手術を行い, メチオニン・コリン欠損 (MCD) 食を 1 週間給餌することによって早期の NASH を誘発した. また, クロドロン酸リポソームの投与により Kupffer 細胞を除去した WT のレシピエントに, ドナーとして $\alpha 7$ nAChR 欠損 ( $\alpha 7$ KO) マウスの骨髓細胞を移植することで, Kupffer 細胞を特異的に $\alpha 7$ KO に置換したキメラマウスを作成し, MCD 食による NASH への影響を検証した. <i>in vitro</i> において, WT マウスの肝臓から分離した Kupffer 細胞に対して, リポ多糖とパルミチン酸を用いて NASH を再現した炎症を誘発し, $\alpha 7$ nAChR 作動薬の投与による抗炎症作用を評価した. <b>【結果】</b> HV 群のマウスは, sham 手術群に比較して, 肝臓の脂質沈着と炎症の両側面において NASH の増悪をきたした. HV 群の肝臓において TNF $\alpha$ , IL-12, MCP-1 に代表される炎症性サイトカインの発現が亢進し, PPAR $\alpha$ 経路に関連する脂質代謝制御因子の発現低下を認めた. 同群では Kupffer 細胞における NF- $\kappa$ B のリン酸化と核内移行が亢進し, Kupffer 細胞の高度な活性化を認めた. 初代培養 Kupffer 細胞に対して, リポ多糖とパルミチン酸による炎症誘発下に $\alpha 7$ nAChR 作動薬を投与すると, NF- $\kappa$ B のリン酸化の抑制とともに炎症性サイトカインの発現の抑制を認めた. $\alpha 7$ KO キメラマウスは, 対象の WT キメラマウスに比較して, 組織学的に高度に進展した NASH をきたした. 同マウスの Kupffer 細胞は, NF- $\kappa$ B のリン酸化亢進を伴う活性化の増強を認めた. その肝臓では TNF $\alpha$ , IL-12, MCP-1 の発現が亢進し, 一方で SREBF-1c の発現亢進に代表される脂質代謝異常の増悪を認めた. <b>【考察】</b> 肝臓迷走神経の離断により, MCD 食で誘発した早期の NASH が増悪し, それは NF- $\kappa$ B のリン酸化を介した Kupffer 細胞の活性化と炎症性サイトカイン発現の亢進を伴った. <i>in vitro</i> において, Kupffer 細胞に対する $\alpha 7$ nAChR への刺激が, 炎症誘発下の NF- $\kappa$ B のリン酸化および炎症性サイトカインの発現を抑制し, 抗炎症作用を有することを確認した. さらに, キメラマウスの手法を用いて, <i>in vivo</i> において Kupffer 細胞特異的に $\alpha 7$ nAChR を欠損させたうえで NASH を誘発した結果, NF- $\kappa$ B のリン酸化を介した Kupffer 細胞の活性化増強による NASH の増悪を認めた. また, Kupffer 細胞特異的な $\alpha 7$ nAChR の欠損が, NASH			

における炎症の進展だけでなく肝臓の脂質代謝異常の修飾も伴うことが明らかとなった. 以上より, 肝臓迷走神経は, Kupffer 細胞に対して  $\alpha 7$ nAChR を介した炎症制御を行い, 炎症惹起が誘因となる早期の NASH において, その進展の抑制に関与する可能性が示唆された.

(論文審査の結果の要旨)

非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は, 脂肪肝を背景とした肝臓の炎症像を特徴とする慢性肝疾患である. Kupffer 細胞による免疫応答が, NASH の炎症進展において中心的な役割を担うことが知られており, Kupffer 細胞の活性化を制御する機序を解明することは重要な課題である.

申請者は, 迷走神経の活動が, 免疫細胞において  $\alpha 7$  ニコチン性アセチルコリン受容体 ( $\alpha 7$ nAChR) を介して抗炎症作用を持つことに着目し, 肝臓への特異的な迷走神経シグナルが, Kupffer 細胞の炎症性活動を制御することにより, NASH に対して抑制的な効果を持つことを検証した. まず, NASH の動物実験モデルにおいて, 肝臓迷走神経を選択的に切離することにより, NASH の組織像が増悪し, Kupffer 細胞の活性化がそれに影響することを確認した. 次に, 初代 Kupffer 細胞を用いて,  $\alpha 7$ nAChR 作動薬が同細胞に対して抗炎症作用を持つことを実証した. さらに, 骨髓キメラマウスの手法により Kupffer 細胞特異的に  $\alpha 7$ nAChR を欠損させたモデルにおいて, Kupffer 細胞が高度な活性化をきたし, NASH における肝臓の炎症および脂質代謝異常の増悪をもたらすことを明らかにした.

以上の研究は, NASH における迷走神経による炎症制御の機序の解明に貢献し, NASH の予防および治療への発展に寄与するところが多い.

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 29 年 3 月 15 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