

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 佐々木 嶺

### 〔題名〕

Trans-portal hepatic infusion of cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a steatohepatitis murine model

(脂肪性肝炎モデルマウスに対する経門脈的骨髄由来培養間葉系幹細胞投与)

### 〔要旨〕

【背景】これまで我々は、非代償性肝硬変症に対して自己骨髄間葉系幹細胞(BMSC)を用いた肝臓再生療法を開発してきた。近年、nucleoside/nucleotide analogue (NA)および Direct acting antivirals (DAA) therapyが確立しHepatitis B virus (HBV)、Hepatitis C virus (HCV)が制御される時代が到来し、今後は肝硬変の成因としてnonalcoholic steatohepatitis (NASH)が増えていくと予想される。そこで今回、carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)単回投与併用コリン欠乏食(CDAA diet)飼育マウス脂肪肝炎モデルを用いて、BMSC 経門脈的肝臓投与の肝線維化、肝脂肪化、酸化ストレスに対する有効性を評価した。

【方法】C57BL/6 AlbinoマウスをCDAA dietで飼育し、CDAA diet飼育開始後4週でCCl<sub>4</sub> (0.5mL/kg)を腹腔内に単回投与した。CDAA diet飼育後12週で $1 \times 10^6$ 個のLuciferase陽性同種同系BMSC (Luc-BMSC)を、脾臓に注入した。In vivo imaging system (IVIS) Spectrum BLを用いてLuc-BMSCが経門脈的に肝臓へと集積したことを確認し、細胞投与後1ヶ月における肝線維化、肝脂肪化、肝機能および血清脂質および酸化ストレスについて、細胞非投与群 (Control group)と比較した。

【結果】血液生化学検査では、Control groupと比較しBMSC groupで有意に血清アルブミン上昇、血清総ビリルビン低下を認め、LDL/HDL ratioは低下する傾向を認めた。また Sirius red染色陽性面積は、Control groupと比べてBMSC groupで有意に低値であり、 $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ -SMA)蛋白およびCollagen1A1(*Col1a1*) mRNA発現はBMSC groupで有意に抑制された。肝脂肪化面積はBMSC groupで有意に低値であり、peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  (*Ppara*)およびcarnitine palmitoyltransferase 1a (*Cpt1a*) mRNA発現は有意に亢進していた。酸化ストレスについて、BMSC groupにおいて 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)陽性細胞は有意に少なく、また肝内のsuperoxide dismutase 2(SOD-2)蛋白発現は有意に亢進していた。

【結論】我々の検討において、脂肪肝炎マウスモデルに対してBMSCの経門脈肝臓直接投与の有効性が確認された。

## 学位論文審査の結果の要旨

令和3年1月2/日

報告番号	甲 第 1590 号	氏 名	佐々木 巖
論文審査担当者	主査教授	山崎 隆弘	
	副査教授	大崎 浩昭	
	副査教授	坂井田 功	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Trans-portal hepatic infusion of cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a steatohepatitis murine model (脂肪性肝炎モデルマウスに対する経門脈的骨髄由来培養間葉系幹細胞投与)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Trans-portal hepatic infusion of cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a steatohepatitis murine model (脂肪性肝炎モデルマウスに対する経門脈的骨髄由来培養間葉系幹細胞投与)			
掲載雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition			
第 67 卷, 第 3 号, P. 274 ~ 282( 2020 年 11 月 掲載)			
(論文審査の要旨)			
<p>これまで我々は、非代償性肝硬変症に対して自己骨髄間葉系幹細胞(BMSC)を用いた肝臓再生療法を開発してきた。近年、nucleoside/nucleotide analogue (NA)およびDirect acting antivirals (DAA) therapy が確立しHepatitis B virus (HBV)、Hepatitis C virus (HCV)が制御される時代が到来し、今後は肝硬変の成因としてnonalcoholic steatohepatitis (NASH)が増えていくと予想される。そこで今回、carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)単回投与併用コリン欠乏食(CDAA diet)飼育によるマウス脂肪肝炎モデルを用いて、BMSC 経門脈的肝臓投与の肝線維化、肝脂肪化、酸化ストレスに対する有効性を評価した。</p> <p>C57BL/6 Albino マウスをCDAA diet で飼育し、CDAA diet 飼育開始後4週でCCl<sub>4</sub>(0.5mL/kg)を腹腔内に単回投与しマウス脂肪肝炎モデルを作出し、CDAA diet 飼育後12週で1×10<sup>6</sup>個のLuciferase 陽性同種同系BMSC (Luc-BMSC)を、脾臓に注入した。In vivo imaging system (IVIS) Spectrum BLを用いてLuc-BMSCが経門脈的に肝臓へと集積したことを確認し、細胞投与後1ヶ月における肝線維化、肝脂肪化、肝機能および血清脂質および酸化ストレスについて、細胞非投与群(Control group)と比較した。</p> <p>血液生化学検査では、Control groupと比較しBMSC groupで有意に血清アルブミン上昇、血清総ビリルビン低下を認め、LDL/HDL ratioは低下する傾向を認めた。またSirius red染色陽性面積は、Control groupと比べてBMSC groupで有意に低値であり、α-smooth muscle actin(α-SMA)蛋白およびCollagen1A1(Coll1a1) mRNA発現はBMSC groupで有意に抑制された。肝脂肪化面積はBMSC groupで有意に低値であり、peroxisome proliferator-activated receptor-α(Ppara)およびcarnitine palmitoyltransferase 1a(Cpt1a) mRNA発現は有意に亢進していた。酸化ストレスについて、BMSC groupにおいて8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)陽性細胞は有意に少なく、また肝内のsuperoxide dismutase 2(SOD-2)蛋白発現は有意に亢進していた。</p> <p>以上より、我々の検討において、脂肪肝炎マウスモデルに対してBMSCの経門脈的肝臓直接投与の肝線維化、肝脂肪化、肝内酸化ストレスに対する有効性が示された。</p>			
本研究は、今後増加していくと想定されるNASH由来の肝硬変に対するBMSCの経門脈的肝臓投与の有効性を示した論文である。よって、学位論文として価値あるものであると認められた。			