博士（農　学）　徐　　虹

学位論文題名

# Studies on the Effect of Dietary Factors on Hepatic and Intestinal Disease in Animal Models

（動物モデルにおける肝臓・消化管疾病に及ぼす
食餌成分の作用に関する研究）

## 学位論文内容の要旨

肝臓は栄養素代謝を司る臓器として重要であり、消化管は栄養素の吸収及び消化を行う主要な臓器として機能しながら食餌成分とからだとの間の障壁となっている。従って、食品はこれらの臓器の恒常性維持と密接に関連していると考えることが出来る。現在、疾病の予防に関して多くの議論がなされているが、殊に食品成分の肝臓銅代謝や消化管発癌に及ぼす作用に関して詳細は明らかになっていない。ヒトにおける疾患の実験動物モデル系の構築及びそれを用いた食品の評価は、我々の健康改善に寄与することに疑いの余地はない。本研究では肝臓及び消化管疾患に関わる動物実験モデルを用い食餌成分の作用について検討した。

1．D-penicilliamine または過剰量のヒスチジン添加食の経口摂取による Long-Evans Cinnamon (LEC)ラットにおける肝臓銅含量の減少と肝障害の軽減

LEC ラットはヒトのウィルソン病遺伝子に相同性のある Cu-transporting P-type ATPase 遺伝子に変異を持つ、自然発生的に肝不全を引き起こす、また、肝臓中に著しい銅の蓄積が起こることからウィルソン病の動物モデルと考えられている。D-penicilliamine とヒスチジンはともに強力な銅キレート活性をもつことから、本研究では LEC ラットにおける D-penicilliamine またはヒスチジン過剰食の経口摂取が肝臓、血清及び尿中の銅含量を調べるとともに、肝臓中のタンパク質発現・脂質代謝・酵素活性について検討した。結果として、D-penicilliamine またはヒスチジン過剰食の摂取が LEC ラットにおける肝臓銅含量の過剰蓄積を抑制し、尿中への銅排泄を促進した。また、本研究では LEC ラットにおける脂質代謝異常を改善する傾向も観察された。ヒスチジン過剰食の摂取による LEC ラットにおける病態改善は、ウィルソン病患者に対する新しい予防治療法としての可能性が示唆された。

2. ラット系統及び加齢による消化管粘膜における免疫系細胞の局在変化とコール酸摂取が放射線照射後のラット大腸上皮細胞動態に及ぼす影響

当該上皮細胞の組織内における存在位置が細胞の増殖あるいは分化の状態を反映することから、消化管上皮は細胞生物学的モデルとして大変興味深い。消化管陰窩長軸に沿った組織切片内での標識細胞の位置及び頻度からその細胞の挙動や機能を知ることが出来る。本研究ではラット系統及び加齢が大腸陰窩内でのナチュラルキラー細胞と上皮間リンパ球の局在に及ぼす影響について検討した。DA ラットの $CD161^+$ナチュラルキラー（NK）細胞は WKAH や F344 ラットより陰窩内に高頻度存在すること、一方、$CD8^+$上皮間リンパ球はむしろ DA ラットでは低頻度であることを明らかにした。ブロモデオキシウリジン取込を指標として、陰窩上皮を増殖上皮領域とそれ以外の分化上皮領域に分け、免疫系細胞の局在を組織化学的に検討した。その結果、$CD161^+$ NK 細胞は陰窩底部に多く存在した。また、結腸陰窩周囲の $CD161^+$ NK 細胞と $CD8^+$ IEL 数が、特に上皮増殖領域において加齢により著しく減少した。異常な上皮細胞が発生する可能性の高い陰窩底部での免疫監視機構において $CD161^+$ NK 細胞が重要な役割を担うと考えられる。また、胆汁酸は生理的な状態では脂質吸収に不可欠な成分である一方、特に二次胆汁酸の一部は癌の発達において促進的に作用することが知られている。本研究では、あらかじめコール酸を摂取させておいた場合、放射線による DNA 傷害後の上皮細胞動態にどのように作用するかを検討した。一般に放射線照射後、消化管上皮はアポトーシスを起こして一部が死滅することが知られている。本研究では、結腸部位に大腸癌の前癌病変である aberrant crypt foci を誘発するのと同程度のγ線（4 Gy）をラットに照射した。興味深いことに、あらかじめラットにコール酸を摂取させておいた場合、結腸部位では照射後 24 時間以内での上皮細胞のアポトーシス発生頻度が有意に減少した。それに伴い S 期上皮細胞の減少が抑制された。一方、盲腸部位ではコール酸の摂取による上皮細胞動態への有意な影響は見られなかった。これまで、胆汁酸は発癌プローモーターとしての役割は知られていたが、本研究により発癌イニシエーションの調節因子としての役割が新たに示唆された。

食餌成分は肝臓における銅代謝異常による病態の改善に寄与するとともに、消化管発癌における上皮細胞の動態制御に関与することが明らかになった。さらに食餌成分の制御は当該消化管関連疾病の病態改善だけでなく、予防にも寄与しうることを示唆している。このような病態モデルを用いた食餌成分の作用解析は、症状に合わせた理想的な食品摂取法を明らかにするための評価系として重要であると考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主　査　　助教授　　石　塚　　敏
副　査　　教　授　　原　　博
副　査　　教　授　　川　端　　潤

学 位 論 文 題 名

# Studies on the Effect of Dietary Factors on Hepatic and Intestinal Disease in Animal Models

（動物モデルにおける肝臓・消化管疾病に及ぼす
食餌成分の作用に関する研究）

本論文は、英文103頁、図11、表20、4章からなり、参考論文4編が添えられている。

肝臓は栄養素代謝を司る臓器として重要であり、消化管は栄養素の吸収及び消化を行う主要な臓器として機能しながら食餌成分とからだとの間の障壁となっている。従って、食品はこれらの臓器の恒常性維持と密接に関連していると考えることが出来る。現在、疾病の予防に関して多くの議論がなされているが、殊に食品成分の肝臓銅代謝や消化管発癌に及ぼす作用に関して詳細は明らかになっていない。ヒトにおける疾患の実験動物モデル系の構築及びそれを用いた食品の評価は、我々の健康改善に寄与することに疑いの余地はない。本研究では肝臓及び消化管疾患に関わる動物実験モデルを用い食餌成分の作用について検討した。

1．D-penicilliamineまたは過剰量のヒスチジン添加食の経口摂取によるLong-EvansCinnamon (LEC)ラットにおける肝臓銅含量の減少と肝障害の軽減

LECラットはヒトのウィルソン病遺伝子に相同性のあるCu-transporting P-type ATPase遺伝子に変異を持つ、自然発生的に肝不全を引き起こす、また、肝臓中に著しい銅の蓄積が起こることからウィルソン病の動物モデルと考えられている。D-penicilliamineとヒスチジンはともに強力な銅キレート活性をもつことから、本研究ではLECラットにおけるD-penicilliamineまたはヒスチジン過剰食の経口摂取が肝臓、血清及び尿中の銅含量を調べるとともに、肝臓中のタンパク質発現・脂質代謝・酵素活性について検討した。結果として、D-penicilliamineまたはヒスチジン過剰食の摂取がLECラットにおける肝臓銅含量の過剰蓄積を抑制し、尿中への銅排泄を促進した。また、本研究ではLECラットにおける脂質代謝異常を改善する傾向も観察された。ヒスチジン過剰食の摂取によるLECラットにおける病態改善は、ウィ

ルソン病患者に対する新しい予防治療法としての可能性が示唆された。

2. ラット系統及び加齢による消化管粘膜における免疫系細胞の局在変化とコール酸摂取が放射線照射後のラット大腸上皮細胞動態に及ぼす影響

当該上皮細胞の組織内における存在位置が細胞の増殖あるいは分化の状態を反映することから、消化管上皮は細胞生物学的モデルとして大変興味深い。消化管陰窩長軸に沿った組織切片内での標識細胞の位置及び頻度からその細胞の挙動や機能を知ることが出来る。本研究ではラット系統及び加齢が大腸陰窩内でのナチュラルキラー細胞と上皮間リンパ球の局在に及ぼす影響について検討した。DA ラットの $CD161^+$ナチュラルキラー（NK）細胞は WKAH や F344 ラットより陰窩内に高頻度存在すること、一方、$CD8^+$上皮間リンパ球はむしろ DA ラットでは低頻度であることを明らかにした。ブロモデオキシウリジン取込を指標として、陰窩上皮を増殖上皮領域とそれ以外の分化上皮領域に分け、免疫系細胞の局在を組織化学的に検討した。その結果、$CD161^+$ NK 細胞は陰窩底部に多く存在した。また、結腸陰窩周囲の $CD161^+$ NK 細胞と $CD8^+$ IEL 数が、特に上皮増殖領域において加齢により著しく減少した。異常な上皮細胞が発生する可能性の高い陰窩底部での免疫監視機構において $CD161^+$ NK 細胞が重要な役割を担うと考えられる。また、胆汁酸は生理的な状態では脂質吸収に不可欠な成分である一方、特に二次胆汁酸の一部は癌の発達において促進的に作用することが知られている。本研究では、あらかじめコール酸を摂取させておいた場合、放射線による DNA 傷害後の上皮細胞動態にどのように作用するかを検討した。一般に放射線照射後、消化管上皮はアポトーシスを起こして一部が死滅することが知られている。本研究では、結腸部位に大腸癌の前癌病変である aberrant crypt foci を誘発するのと同程度の $\gamma$ 線（4 Gy）をラットに照射した。興味深いことに、あらかじめラットにコール酸を摂取させておいた場合、結腸部位では照射後 24 時間以内での上皮細胞のアポトーシス発生頻度が有意に減少した。それに伴い S 期上皮細胞の減少が抑制された。一方、盲腸部位ではコール酸の摂取による上皮細胞動態への有意な影響は見られなかった。これまで、胆汁酸は発癌プローモーターとしての役割は知られていたが、本研究により発癌イニシエーションの調節因子としての役割が新たに示唆された。

以上のように本研究は、食餌成分が肝臓における銅代謝異常による病態の改善に寄与するとともに、消化管発癌における上皮細胞の動態制御に関与することを明らかにした。さらに食餌成分の制御は当該消化管関連疾病の病態改善だけでなく、予防にも寄与しうることを示唆している。このような病態モデルを用いた食餌成分の作用解析は、症状に合わせた理想的な食品摂取法を明らかにするための評価系として重要であると考えられる。

よって、審査員一同は、徐　虹が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。