

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 荒川 純子

2 論文題目

肝臓におけるコレステロール制御分子の HDL 代謝/機能に及ぼす影響に関する検討

3 論文の内容の要旨

(1) 目的

血中高比重リポ蛋白 (HDL) コレステロール濃度低値は動脈硬化性疾患の危険因子であることが広く知られ、治療標的として注目されている。HDL の抗動脈硬化作用は、動脈硬化層巣に蓄積したコレステロールを搬出、肝臓に搬送し最終的に糞便に排泄するという一連の経路 (コレステロール逆転送、RCT) を活性化することにより発揮される。RCT における重要なステップは、動脈硬化巣マクロファージにおけるコレステロールの搬出と、肝臓における HDL の取り込みとされ、ABCA1、SR-BI などの分子が重要な働きをするが、これら以外のコレステロール代謝に関わる分子の RCT に与える影響は明らかではない。

本研究では、コレステロールを胆汁酸に変換する酵素であるコレステロール 27 α -ヒドロキシラーゼ (CYP27A1) と、コレステロールの細胞内輸送を制御する Niemann-Pick C2 (NPC2) に注目し、マウスを用いて HDL 代謝および RCT に及ぼす影響について検討した。

(2) 対象並びに方法

- 1) マイクロ RNA (miR) を発現するアデノウイルスベクター投与により C57BL/6J マウスにおいて肝臓特異的に CYP27A1 の発現を抑制し、リポ蛋白代謝に関する検討および *in vivo* RCT アッセイを行った。
- 2) マウス NPC2 に対する miR およびマウス NPC2 蛋白を発現するアデノウイルスベクターを構築した。miR に関しては血清脂質濃度測定を、肝臓 NPC2 過剰発現に関しては、リポ蛋白代謝に関する検討および *in vivo* RCT アッセイを行った。

(3) 成績

- 1) 肝臓 CYP27A1 発現抑制を行い *in vivo* RCT アッセイを行ったところ、対照と比較しマクロファージ由来コレステロールの糞便排泄には差がなく、RCT に影響を認めなかった。
- 2) 肝臓 NPC2 発現抑制実験では、NPC2 発現抑制は不十分で、血清脂質の変化も明らかでなかった。一方、NPC2 肝臓特異的過剰発現マウスでは、血清 HDL-C 濃度が低下し、アポ蛋白 (アポ) B 含有リポ蛋白濃度が増加した。さらに、*in vivo* RCT アッセイで RCT が有意に低下した。低 HDL-C 血症は肝臓における HDL 新生

低下、高アポ B 含有リポ蛋白血症は VLDL 代謝遅延が原因であることが示唆された。肝臓の胆汁酸合成にかかわる CYP7A1 の mRNA および蛋白発現が低下していたことから、RCT 抑制の機序のひとつとして、CYP7A1 発現抑制によりコレステロールから胆汁酸への変換が低下したことが挙げられた。

(4) 考察

CYP27A1 欠損により発症する脳腱黄色腫患者では動脈硬化巣マクロファージが泡沫化し早発性動脈硬化症を合併するが、肝臓 CYP27A1 欠損での HDL 代謝へのあきらかな影響は認めなかった点から、CYP27A1 欠損の動脈硬化は HDL 非依存性の機序が考えられた。

肝臓 NPC2 過剰発現は肝臓から腸管へコレステロール排泄を促し、その結果 RCT を促進、抗動脈効果的に作用するという仮説のもと検討を行ったが、予想とは異なり、肝臓コレステロール蓄積が促進、低 HDL-C 血症および高アポ B 含有リポ蛋白血症を引き起こし、RCT は低下した。従って、NPC2 過剰発現は肝臓コレステロール代謝の恒常性維持を破綻させ、動脈硬化促進的なフェノタイプを惹起した可能性が示唆された。

(5) 結論

マウス肝臓における CYP27A1 の発現抑制は血清脂質および RCT に影響を与えなかった。NPC2 過剰発現は血中 HDL-C 濃度を低下、アポ B 含有リポ蛋白濃度を増加させ、RCT を抑制した。