

審査の結果の要旨

氏名 木村 武史

本研究は生理的条件下における重度高トリグリセライド (TG) 血症制御の分子機構を解明するため、重度高 TG 血症の原因遺伝子アポリポ蛋白 A5 (apoA-V、ヒト遺伝子名 *APOA5*) を欠損したマウス (*Apoa5*^{-/-}) を用いて、高 TG 血症増悪の食事要因として知られる炭水化物に着目し、炭水化物摂取による高 TG 血症の分子機構の解明を目指したものである。特に、高 TG 血症を制御する転写因子として申請者の研究室がその役割を明らかにしてきている転写因子 sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) に着目し、*Apoa5* と *Srebp-1c* の両欠損マウス (*Apoa5*^{-/-};*Srebp-1c*^{-/-}) を用いることにより、①どのような食事成分(炭水化物の種類など)が *Apoa5*^{-/-} で高 TG 血症を誘発するのか、② *Apoa5*^{-/-} における炭水化物による重度高 TG 血症の分子機構は何か、特に SREBP-1c はどの程度重要な役割を果たすのか、について解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 摂取する炭水化物の種類の違いが高 TG 血症に及ぼす影響を検討した結果、*Apoa5*^{-/-} において、フルクトースの摂取は著しい高 TG 血症を誘発するが、グルコースの摂取は高 TG 血症を誘発しないことが示された。High-performance liquid chromatography (HPLC) 分析の結果、フルクトース摂取により高 TG 血症をきたした *Apoa5*^{-/-} では、カイロミクロンサイズの大型 very low density lipoprotein (VLDL) が蓄積していることが示された。

2. 一方、*Apoa5*^{-/-};*Srebp-1c*^{-/-} における検討から、フルクトース摂取に伴う高 TG 血症や大型 VLDL 蓄積は、SREBP-1c 欠損により、ほぼ野生型マウスのレベルまで改善することが示された。フルクトース摂取は、肝臓の転写因子 SREBP-1c 遺伝子の転写を誘導し、SREBP-1c が転写制御する脂肪酸・TG 合成系酵素遺伝子の転写を誘導していたことから、フルクトース摂取は SREBP-1c の発現増加、TG を豊富に含むカイロミクロンサイズの大型 VLDL の産生を介して、高 TG 血症を惹起すると考えられた。

3. VLDL やカイロミクロンなどの TG 含有リポ蛋白 (TG-rich lipoproteins (TRL)) は、血管内皮表面の lipoprotein lipase (LPL) により代謝されている。TRL が LPL と相互作用するためには、LPL を血管内皮細胞血管内腔側に繫留する膜蛋白 glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1 (GPIHBP1)、および TRL と GPIHBP1 の両者に結合する apoA-V が必要であり、apoA-V 欠損ではこの TRL-apoA-V-GPIHBP1-LPL 複合体が形成されないために高 TG 血症をきたすと考えられている。今回、実際に、LPL を血管内皮表面から遊出させる処理 (ヘパリン投与) により、*Apoa5*^{-/-} における高 TG 血症は著明に改善することが分かった。以上か

ら、フルクトース摂取は大型 VLDL 産生をきたし、大型 VLDL の代謝には apoA-V が必須であるために、apoA-V 欠損においては高フルクトース食で大型 VLDL が著しく蓄積すると考えられた。

4. 高炭水化物食以外に、脂肪負荷も高 TG 血症を惹起することが知られている。脂肪負荷が *Apoa5*^{-/-} と *Apoa5*^{-/-};*Srebp-1c*^{-/-} の脂質代謝に及ぼす影響を検討した結果、脂肪負荷は apoA-V 欠損下で高カイロミクロン血症を誘発し、この現象は SREBP-1c 非依存的であることが示された。SREBP-1c は VLDL を大型化することにより VLDL 代謝を調節するが、カイロミクロンの産生やクリアランスには影響しないことが示唆された。

5. 高フルクトース食投与の time course と dose response 実験を行った結果、転写因子 SREBP-1c の下流遺伝子として知られる脂肪酸・TG 合成系酵素遺伝子は、SREBP-1c 欠損下でもフルクトース摂取により遺伝子発現が増加していることが分かった。従って、これらの既知の SREBP-1c 下流遺伝子の発現変化は、フルクトース摂取による大型 VLDL 産生・蓄積の SREBP-1c 欠損による完全なレスキューを、部分的には説明できても、完全に説明できない可能性が示唆された。これらの遺伝子の他に大型 VLDL 産生を制御する SREBP-1c の下流遺伝子が存在する可能性が考えられた。

以上、本論文は炭水化物の摂取により高 TG 血症が生じる分子機構として、SREBP-1c による大型 VLDL 産生とその apoA-V によるクリアランスが重要な役割を果たすことを明らかにした。*APOA5* は心血管疾患の早期発症のリスク遺伝子としてゲノムワイド関連解析で LDL 受容体遺伝子 (*LDLR*) の次にランクされている。本研究は高 TG 血症の分子機構の更なる解明に寄与するとともに、明らかとなった遺伝子 (apoA-V) -環境

(SREBP-1c) 連関は高 TG 血症や高 TG 血症関連合併症 (膵炎、アテローム性動脈硬化症など) の良い治療標的となり得ると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。