

論文の内容の要旨

論文題目 酸素分圧 2% および低比重リポ蛋白質負荷
培養条件下における平滑筋細胞の脂質蓄積現象の解析

氏名 杉山 暁

近年の我が国における生活環境の著しい変化に伴い、虚血性心疾患や脳血管障害といった血管障害に起因する疾患が死因の上位を占めるようになってきている。これらの血管障害はアテローム性動脈硬化症（粥状動脈硬化症）が主たる原因であることから、動脈硬化症発症の危険因子を是正する治療が重要となってくる。中でも、高コレステロール血症と動脈硬化症との関連性は古くより知られており、食事から摂取する動物性脂肪やコレステロールの量の増加が血清コレステロール値の上昇を引き起こし、虚血性心疾患のリスクを増加させることが明らかにされている。その一方、高コレステロール負荷により、動物モデルにおいても動脈硬化症を発症させることができるが、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。そこで、アテローム性動脈硬化病変形成のメカニズムを解明するために、血管壁の *in vitro* モデルである混合培養系を用い、「アテローム誘発因子」を探索した。その結果、LDL の負荷だけではなく、それらに加え何らかの「アテローム誘発因子」必要であると考えられた。

そこで、本論文では、生理的条件下における血管壁の酸素分圧が 2 - 6% であることに着目し、病変形成に及ぼす酸素分圧の影響を検討した。その結果、2 - 5% の酸素分圧下において、native な LDL を負荷することによって血管平滑筋細胞内に顕著な脂質蓄積が認められることを明らかにした。この結果は、従来の酸化 LDL 仮説とは異なり、LDL の酸化等の修飾を必要とせず、生理条件下では高濃度の LDL の曝露により初期病変が形成される可能性を示唆するものであり、動脈硬化症の発症を理解する上で重要な知見であると考えられる。

第 3 章では、血管平滑筋細胞の単培養系を用いて、 PO_2 2%, LDL (+) の条件下で検討した結果、混合培養系と同様の脂質沈着が認められ、その主たる成分は、コレステロールエス

テルであることが明らかとなった。一般に細胞内のコレステロール量は、細胞外からの取込み、*de novo* 合成、および細胞外への放出によって調節されている。そこで、これらに対する影響を検討した結果、細胞外への放出や *de novo* 合成ではなく、取り込みであることが示唆された。しかしながら、これらの取込み機序は不明であった。

第4章では、 PO_2 2%, LDL (+) の条件下における脂質沈着のメカニズムを明らかにする目的で、DNA microarray を用いたトランスクリプトーム解析を行なった。その結果、コレステロール合成系酵素の発現減少が認められるとともに、放出系関連タンパク質の遺伝子発現変化は変化が見られず第3章の結果が支持された。一方、取り込みに関する LDL レセプターやスカベンジャーレセプターの遺伝子発現は抑制または、変化がない結果となり、LDL レセプターおよび、スカベンジャー遺伝子以外の取り込み経路が示唆された。そこで、 PO_2 2%, LDL (+) 培養条件にて顕著な発現増加が見られた脂質代謝関連遺伝子である、アディポフィリン、およびレプチンに関してプロモーター解析を行なったところ、2つに共通する転写因子結合エレメントとして、HRE の存在が明らかとなった。さらに、 PO_2 2%, LDL (-) 培養条件における HRE の役割をレプチンのプロモーター用いて解析を行なった。その結果、-116 にある HRE が重要な役割を果たしており、遺伝子発現解析の結果、HIF-1 がその転写を担っている可能性が示唆された。

以上のことから、 PO_2 2%, LDL (+) 培養条件下の血管平滑筋細胞において酸化変性されていない LDL により脂質沈着が起り、その際の遺伝子発現は HIF-1 が何らかの転写制御を担っていることを示唆した。これらのことは、 PO_2 2% の条件下でプロモーター解析を行なうことで新たな動脈硬化症の発症に関与する因子の同定が可能になる点で重要な知見をもたらしたと考えられる。