

論文の内容の要旨

論文題名 パラオキシナーゼおよび血漿型 PAF-アセチルヒドロラーゼの特性と
 動脈硬化への影響

指導教官 木村 哲 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 11 年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 能登 洋

【はじめに】

動脈硬化症には血管壁内における LDL の酸化がその発症・進展に大きく関与する。HDL は抗動脈硬化的に働くが、その機序として末梢組織から肝臓へコレステロールを運搬する逆転送機能のほかに LDL の酸化を抑制する作用がある。パラオキシナーゼ 1 (paraoxonase1, PON1) と血漿型 PAF-アセチルヒドロラーゼ (PAF-acetylhydrolase, PAF-AH) は後者の作用を担う酵素として近年注目されている。

本研究ではアポ A-I 欠損症患者における PON1 の分布・活性の特徴 (Part 1) と、動物実験で PON1 および PAF-AH を過剰発現させた場合の動脈硬化への影響 (Part 2) を検討した。

Part 1. アポ A-I 欠損症における PON1 の特徴

【背景・目的】

PON1 は正常人においては HDL 上にのみ存在するが, アポ A-I 異常症では蛋白分画に存在すると報告されている. マウスでの実験からアポ A-I が PON1 の活性安定化とともに HDL への局在化に関与していることが提唱されている. しかしヒトのアポ A-I 欠損症における PON1 の分布・活性は不明であった.

【方法】

1. アポ A-I 欠損症患者および正常人の血清を FPLC 法および超遠心法にて分画し, Western blotting にて PON1・アポ A-II・アポ E の分布を検討した.
2. 血清 PON1 活性の経時的低下率を調べた.

【結果】

1. FPLC 法による解析では PON1 が患者においても HDL 上にのみ存在していた. 一方, 超遠心法では HDL 分画と蛋白分画に一部認められたが, 正常人と比較して患者では蛋白分画に分布する割合が大きかった.
2. 14°Cにて7日間孵置後の血清 PON1 活性は,患者と正常人の間で著明な差は認めなかった. 37°Cにて24時間孵置後の患者の血清 PON1 活性は正常人と比較して約 80%に低下した.

【結語】

アポ A-I 異常症と異なりアポ A-I 欠損症では PON1 は HDL 上に分布しているが, その活性安定化・HDL との結合安定化にはヒトにおいてもアポ A-I が重要な役割を果たしていることが示唆された. また, これらの所見はアポ A-I 欠損マウスの特徴と一致していることから, マウスを用いた実験が人間における HDL の抗動脈硬化作用の解明に有用であることが示唆された.

Part 2. PON1 および PAF-AH 過剰発現による動脈硬化への影響

【背景・目的】

PON1 はヒトでもマウスでも HDL 上にのみ存在する。一方、血漿型 PAF-AH はヒトでは LDL と HDL 上に存在するがマウスでは HDL 上に存在し LDL には結合しないと報告されている。PON1 欠損マウスでは動脈硬化が促進し、ヒト PON1 やヒト PAF-AH を過剰発現させたマウスでは動脈硬化進展が抑制されることが報告されている。

【方法】

野生型マウスおよびアポ E 欠損マウスに経静脈的にアデノウイルスを介してヒト PON1 とヒト血漿型 PAF-AH を過剰発現させ、脂質変化、酵素活性・分布、リポ蛋白被酸化能(lag time)、酵素過剰含有 HDL によるマクロファージ泡沫化への影響を検討した。PAF-AH に関しては LDL 受容体欠損マウスも使用した。

【結果】

	PON1	血漿型 PAF-AH
リポ蛋白変化	著変なし	野生型マウスで HDL 低下・ LDL 上昇傾向あり
発現分布	HDL 上のみ	全リポ蛋白分画
リポ蛋白被酸化能	低下	各リポ蛋白とも低下
血漿酸化 LDL 抗体価	上昇抑制	上昇抑制
マクロファージの 抗泡沫化への影響	抗泡沫化作用増強 脱泡沫化作用増強	抗泡沫化作用増強 脱泡沫化作用増強

【結語】

PON1 過剰発現は抗動脈硬化的な作用を有し、その機序として PON1 過剰含有 HDL が酸化 LDL の動脈硬化惹起性作用を抑制し、かつ自身の酸化を抑制して脂質引き抜き機能を保持する作用を有することが判明した。血漿型 PAF-AH を用いた検討では PON1 と同様の結果が導き出されたほか、他のリポ蛋白とも結合してそれらの酸化を直接抑制することも初めて判明した。