

審査の結果の要旨

氏名 能登 洋

本研究は HDL による LDL の酸化抑制作用において重要な役割を演じていると考えられているパラオキシナーゼ(PON1)と血漿型 PAF-アセチルヒドロラーゼ(PAF-AH)の特性と作用を解明するため、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)を検討したものであり、下記の結果を得た。

Part 1. アポ A-I 欠損症における PON1 の特徴

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。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。この結果から、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。
2. 血清 PON1 活性の経時的低下率を調べたところ、14℃にて7日間孵置後の活性は患者と正常人の間で著明な差は認めなかったが、37℃にて24時間孵置後の患者の活性は正常人と比較して約80%に低下した。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

1. 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 を過剰発現させ、動脈硬化抑制機序を検討した。過剰発現した PON1 は HDL にのみ結合した。PON1 過剰含有 HDL は酸化ストレスに対する抵抗性が増加し、そのマクロファージの泡沫化抑制作用も増加した。
2. 野生型マウス、アポ E 欠損マウスおよび LDL 受容体欠損マウスに経静脈的にアデノウイルスを介してヒト血漿型 PAF-AH を過剰発現させ、動脈硬化抑制機序を検討した。過剰発現した PAF-AH はすべてのリポ蛋白と結合し、酸化ストレスに対する抵抗性が増加した。PAF-AH 過剰含有 HDL のマクロファージ泡沫化抑制作用も増加した。
3. 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。

以上、本論文はアポ A-I 欠損症の検体解析とマウスでのヒト PON1、血漿型 PAF-AH 過剰発現実験から各酵素の生化学的な特性と抗動脈硬化作用を解明した。本研究はこれまで報告が乏しかった HDL 関連酵素の抗動脈硬化作用の解明と動脈硬化の治療開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。