

審査の結果の要旨

氏名 森川滋

HMG-CoA 還元酵素はコレステロール合成の初期段階である HMG-CoA からメバロン酸への変換を触媒し、コレステロール合成の律速酵素である。HMG-CoA 還元酵素阻害薬は HMG-CoA 還元酵素を拮抗的に阻害し、コレステロール産生を抑制する。HMG-CoA 還元酵素阻害剤は、現在、世界において広くコレステロール代謝異常の是正と動脈硬化の予防、治療に使用され、世界最大の市場規模をもつ医薬品となっている。また、各国で 90 年代から大規模臨床使用の調査が行われ、筋肉障害の副作用及び pleiotropic effect (多面的作用) と呼ばれるコレステロール低下以外の作用の 2 課題が提起されている。

そこで、HMG-CoA 還元酵素阻害剤が多数の遺伝子発現の変動をもたらすことに注目し、系統的な遺伝子発現の解析からスタチンの安全で有用性の高い使用方法の分子生物学基礎を明らかにするため実験を行い、以下の 3 つの結果が得られた。

1. まずヒト培養肝細胞 HepG2 における HMG-CoA 還元酵素及び LDL 受容体 mRNA レベルの変動の正確な測定を、RNase プロテクションアッセイ法を用いて確立した。次に 5 つの HMG-CoA 還元酵素阻害剤(1 μ M)を比較した。経時的検討より、ピタバスタチンは他の HMG-CoA 還元酵素阻害剤よりも持続的に LDL 受容体の発現を誘導した。50%コレステロール合成阻害濃度(IC50)の 200 倍濃度(臨床における肝臓の推定濃度)では、ピタバスタチンはアトルバスタチン及びシンバスタチンよりも LDL 受容体の発現を有意に誘導した。

各種 HMG-CoA 還元酵素阻害剤での HepG2 における LDL 受容体遺伝子の誘導の程度は異なり、LDL 受容体の誘導は臨床的に有用な可能性がある。ピタバスタチンは臨床に用いられている範囲で、同程度のコレステロール合成阻害を起す濃度で、最も顕著に LDL 受容体遺伝子を誘導し、LDL を取込み、分解し、活性を上昇させた。

2. HepG2 と血管壁細胞(正常ヒト臍帯血管由来内皮細胞、正常ヒト冠状動脈平滑筋細胞)での、HMG-CoA 還元酵素阻害剤による遺伝子発現の変動を系統的に測定し、多面的作用とよばれる遺伝子変動がどのような細胞において、どのような遺伝子が、いつ、どの程度の変化を起しているかを、DNA マイクロアレー技術を用いて検討した。HMG-CoA 還元酵素阻害剤は血管壁の細胞において、プラスミノーゲン活性化阻害因子 1 を抑制し、トロンプモジュリンを誘導することにより抗凝固作用を、エンドセリン 1 を抑制し、一酸化窒素合成酵素を誘導することにより血管収縮抑制作用を、単球遊走蛋白 1 を抑制することにより抗炎症作用を有することが分った。

ピタバスタチンは血管壁の細胞では、凝固、血管収縮、炎症にかかわる遺伝子発現を抑制し、これらを抑える遺伝子を誘導する。この効果は肝細胞には見られず血管壁細胞に特徴的な効果である。すなわち、HMG-CoA 還元酵素阻害剤は血管壁細胞の遺伝子発現を変えることにより、臨床的に効果をもたらすことが明らかとなった。

3 . 血管内皮細胞における網羅的解析より、新たに HMG-CoA 還元酵素阻害剤の作用として見出された転写調節因子 Kruppel-like factor 2 (KLF2)mRNA の誘導及び急性期炎症蛋白 pentraxin 3 (PTX3)mRNA の抑制について、HMG-CoA 還元酵素阻害剤による制御の分子機構を検討した。

ピタバスタチンによる血管内皮細胞での KLF2 及び PTX3 遺伝子制御は、特にコレステロール合成中間代謝産物のゲラニルゲラニルピロリン酸による蛋白修飾を介している。また KLF2 及び PTX3 遺伝子制御は、特異的阻害剤の効果から低分子量 G 蛋白質の Rac1 と Cdc42 がこの作用を担っている可能性が示唆された。やや弱い程度でファルネシルピロリン酸による修飾も関与していると考えられたが、その分子機構は不明である。

ピタバスタチンは TNF 及び IL1 刺激で誘導される PTX3mRNA の半減期を短縮したが、mRNA の不安定化によるものではなく、何らかの新規蛋白合成を必要とした。一方、ピタバスタチンによる KLF2 誘導は KLF2mRNA の安定化によるものではなかった。

以上の検討により、HMG-CoA 還元酵素阻害剤は肝臓に作用して LDL コレステロールを低下させるだけでなく、血管に作用して遺伝子発現を調節し、動脈硬化を改善することが明らかとなった。

今回の研究で示された、HMG-CoA 還元酵素阻害剤による遺伝子発現の制御の解明は有効で安全な治療法開発の基礎として重要である。

よって本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。