

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 兎 澤 隆 一

近年の研究により、コレステロールが形態形成、特に神経系の発生において重要であることが示される一方で、高コレステロール血症が動脈硬化巣の形成や進展を惹起し、冠動脈疾患の発症リスクを増大させることも明らかにされている。本研究は、胎仔の発生や形態形成、肝臓および血漿中コレステロール代謝における内因性コレステロールの意義を明らかにする目的で、コレステロール生合成系酵素の一つであるスクアレン合成酵素（以下 **SS**）を欠損したマウスを作製し、胎仔発生と産仔における肝および血漿中コレステロール代謝への影響に関する解析から下記の結果を得ている。

1. マウス **ES** 細胞を用いた遺伝子ターゲティング法により **SS** ヘテロ型欠損マウスを取得した。ヘテロ型接合体の一般性状および生殖能に異常は認めなかった。
2. ヘテロ型接合体同士の交配でホモ型接合体産仔が得られなかったことから、**SS** のホモ型欠損は胎生致死性と考えられた。子宮内の胎仔を解析したところ、胎生 9.5-10.5 日までにホモ型接合体が確認された。すなわち、マウスにおいては、内因性コレステロールの合成が抑制された状態においても、妊娠中期まで胎仔発生が維持できる可能性が示唆された。
3. ホモ型接合体胎仔は著しい成長遅延と神経管閉鎖不全による前脳の形成不全を呈していた。病理学的には神経提部に凝集した核を有する神経細胞を認め、アポトーシスの関与が示唆された。これらの結果から、**SS** 活性が正常な胚発生、特に神経系発生に必須であることが示された。
4. 高コレステロール食負荷あるいはアポ **E** 欠損変異導入により高コレステロール血症を惹起させたヘテロ型接合体の交配によってもホモ型接合体産仔は得られなかった。これらの成績は、妊娠中期以降の胎仔発生に利用されるコレステロールは母体由来コレステロールのみでは不十分であることを示唆した。
5. **SS** 反応生成物であるスクアレンを負荷したヘテロ型接合体マウスの交配においてもホモ型接合体が得られなかったことから、ホモ型欠損マウスで観察される胎生致死性は、内因性コレステロール欠乏に由来するだけではなく、**SS** の反応基質であるファルネシル 2 リン酸およびその代謝物が胎仔に致死的に作用した可能性も推察された。

6. ヘテロ型接合体における肝臓および精巣中 SS 酵素活性は野生型の約 50%に低下していたが、肝臓中のコレステロール合成活性やコレステロール感受性遺伝子群の mRNA 発現量に有意な変動は認められなかった。これらの結果から、SS ヘテロ型欠損は肝臓中 SS 活性を半減させるものの、肝臓におけるコレステロール代謝の恒常性に影響しないことが示された。
7. SS 野生型とヘテロ型接合体マウスの血漿総コレステロール値およびトリグリセリド値、リポ蛋白質組成に有意な差異は認められなかった。また、高脂血症を惹起する LDL 受容体欠損変異を導入した場合にも、SS 野生型とヘテロ型接合体の血漿総コレステロール値およびトリグリセリド値に有意な差異は認められなかった。これらの結果から、SS ヘテロ型欠損は血漿脂質代謝に影響しないことが示された。

以上、本論文はマウスにおいて SS が妊娠中期以降の正常な胎仔発生、特に神経系器官形成に重要な役割を果たしていること、ヘテロ型欠損により肝臓中の SS 酵素活性が半減した場合においても肝コレステロール合成活性や血漿中脂質組成に影響を及ぼさないことを明らかにした。SS 欠損マウスはコレステロール生合成系酵素の欠損マウスとして世界で最初の作製例であり、本研究は胎仔発生と肝および血漿中コレステロール代謝における SS および内因性コレステロールの役割に関する研究の端緒となったとともに、高コレステロール血症治療薬を指向した SS 阻害薬の開発において有用な実験系を提供したと考えられることから、学位の授与に値すると考えられる。