

## [課程一2]

### 審査の結果の要旨

氏名 太田 啓介

本研究は以前より中性コレステロールエステル水解酵素であるLipeならびに最近新規に同定された中性コレステロールエステル水解酵素であるNceh1の副腎における役割を明らかにするため、Nceh1遺伝子欠損マウス、Lipe遺伝子欠損マウスならびにNceh1/Lipe二重遺伝子欠損マウスの副腎を用いて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. まず副腎重量の測定では Nceh1 遺伝子欠損マウス、Lipe 遺伝子欠損マウス、Nceh1/Lipe 二重遺伝子欠損マウスの順に重量の増加を認めた。

次に副腎あたりのコレステロールエステルを測定した。その結果 Nceh1 遺伝子欠損マウス、Lipe 遺伝子欠損マウスならびに Nceh1/Lipe 遺伝子欠損マウスにおいてコレステロールエステルの増加を認め、特に後 2 者で顕著であった。続いて DNA 含量を蛍光法で測定した結果、Nceh1/Lipe 二重遺伝子欠損マウスにおいてのみわずかに DNA 含量の増加を認めた。

以上より副腎の腫大ならびに重量の増加には細胞内コレステロールエステルの増加の関与が大きく、Nceh1/Lipe 遺伝子欠損マウスにおいてのみ細胞増殖の関与が示された。

2. 副腎の全細胞溶解液、細胞質分画ならびにマイクロソーム分画の蛋白を用いた中性コレステロールエステルの水解活性測定ではいずれもLipe遺伝子欠損マウスならびにNceh1/Lipe二重遺伝子欠損マウスにおいて著明な水解活性の低下を認めた。その中でマイクロソーム分画ではLipe遺伝子欠損マウスにくらべNceh1/Lipe二重遺伝子欠損マウスにおいて更なる水解活性の低下を認めた。この結果副腎のコレステロールエステル水解活性はLipeが最も重要な役割を担っているが、Nceh1の関与も少なくない事が示された。

3. コルチコステロン分泌への影響を確認する目的にてACTH負荷試験を施行したが、コルチコステロンの値に有意な差を認めず、機能的に明らかな関与は示されなかった。

4. ヘマトキシリン-エオジン染色ではLipe 遺伝子欠損マウスにおいて束状層にて脂肪滴の増加ならびに細胞の肥大、X-zone において syncytial lipid structure と呼ばれる変性細胞も存在していた。その上 Nceh1/Lipe 二重遺伝子欠損マウスでは上記と同様の組織学的変化が更に顕著に認められた。また抗 Nceh1 抗体を用いた免疫組織染色では野生型マウスで主に皮質の束状層と思われる部位が染色された。Lipe は皮質の顆粒層と束状層に存在するとの報告があり、Nceh1 と協調して主に束状層にてコレステロールエステルの水解に関与している可能性が示された。

5. Lipe遺伝子欠損マウスならびにNceh1/Lipe二重遺伝子欠損マウスにおいて、de novo コレステロール合成酵素であるHmgcs1の発現上昇ならびにコレステロール細胞外排出に関与するAbca1の発現の低下がNorthern blotならびにRT-PCRにおいて示された。その他の細胞内コレステロールの取り込みやステロイド合成に関与する遺伝子の発現に差を認めなかったことから、細胞内コレステロールエステルの水解により供給されるコレステロールが、細胞内コレステロールホメオスターシス維持に重要である可能性が示唆された。

さらにLipe遺伝子欠損マウスならびにNceh1/Lipe二重遺伝子欠損マウスにおいてCd68の発現が著明に増加していることから、副腎へのマクロファージの浸潤が示唆された。

6. Nceh1 が心臓にも発現しており心臓のヘマトキシリン-エオジン染色を行ったNceh1 遺伝子欠損マウス、Lipe 遺伝子欠損マウスならびにNceh1/Lipe 二重遺伝子欠損マウスにおいて心筋細胞の白色調の変化があり今後の検討が必要であると考えられた。

以上、本論文は副腎における中性コレステロールエステル水解酵素である Nceh1 ならびにLipe を欠損させたマウスを用いて、Lipe ならびにNceh1 の副腎における役割を検討した。その結果副腎におけるコレステロールエステルの水解に関してはLipe が主要な役割を担っているが、Nceh1 も Lipe とともに作用する事で副腎内コレステロール代謝に重要な働きを果たしている事を明らかにした。本研究はこれまで未知であった副腎細胞におけるコレステロールエステル水解酵素の役割ならびにコレステロール代謝の解明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。