

遺伝子改変ウサギモデルによる粥状動脈硬化の分子病態機構の究明

山梨大学大学院総合研究部医学域基礎医学系分子病理学講座

範 江林



現在、我が国において、心筋梗塞や脳卒中といった血管の病気が死因の約 30%を占めています。その原因となる動脈硬化は加齢に伴い進行するため、人口の高齢化が加速する中で、医学領域は当然のことながら、国民の生活や社会構造にも大きな影響を及ぼしかねません。そこで、動脈硬化がどのように発生し、更に進展（進行）していくかを解明するうえで、新たな治療法及び予防法を確立することが求められています。動脈硬化のメカニズム解明の方法の一つとして、ヒト動脈硬化の病態を忠実に再現できる（ヒトの動脈硬化と同じ病気を引き起こす）実験動物を開発することは言うまでもなく肝心なことです。これまでに我々の取り組んできた新しい遺伝子改変ウサギを用いることにより、明らかとなった研究成果を紹介いたします。

●はじめに

高脂血症は、動脈硬化の発症においては、最も重要な危険因子です。動脈硬化の治療及び予防法の開発には、高脂血症を規定する因子を網羅的に探索し、これらの規定因子の生理機能及び動脈硬化の発症におけるそれぞれの役割について、我々は独自に開発した遺伝子改変ウサギによる検討を行っています。

●脂質代謝研究におけるウサギモデルの特徴

ウサギはマウスに次いで重要な動脈硬化実験動物として 100 年前から使用されています。マウスやラットといったウサギと比較しての小動物に対し、ウサギの血漿脂質は、人間に近く、高脂肪食に対する反応が敏感で、ヒトと同様に動脈硬化を発症します。更に実験動物としてのウサギの大きさは、大型動物のブタやサルと比べて、適当で取り扱いが容易です。

●遺伝子改変ウサギの開発及び応用

遺伝子改変動物は、遺伝子工学技術を用いて人為的にある特定の遺伝子を導入（発現）させたり、欠失（欠損）させたりする動物で、遺伝子機能を解析するために、遺伝子改変マウスはよく利用されます。我々は、ウサギの生理特徴（ヒトと類似する脂質代謝系を有する）を生かして、世界に先駆けて、様々な遺伝子改変ウサギモデルの開発を行い、脂質代謝異常及び動脈硬化の発生機序の解明に向けて、包括的な研究を進めています。特に、脂質代謝異常症に関連する蛋白機能の解析のために、肝臓で主に合成されているリポ蛋白の構成蛋白であるアポ蛋白 [アポ (a)、アポ AII、アポ B100、アポ CIII、アポ E] 及び脂質代謝関連酵素（アポ

B mRNA 編集蛋白、肝リパーゼ、リポ蛋白リパーゼ、内皮リパーゼ、コレステロール転送蛋白)の遺伝子改変ウサギを作製し、これらの蛋白発現制御によって動脈硬化の発生にどのような影響を及ぼすかを明らかにしました。

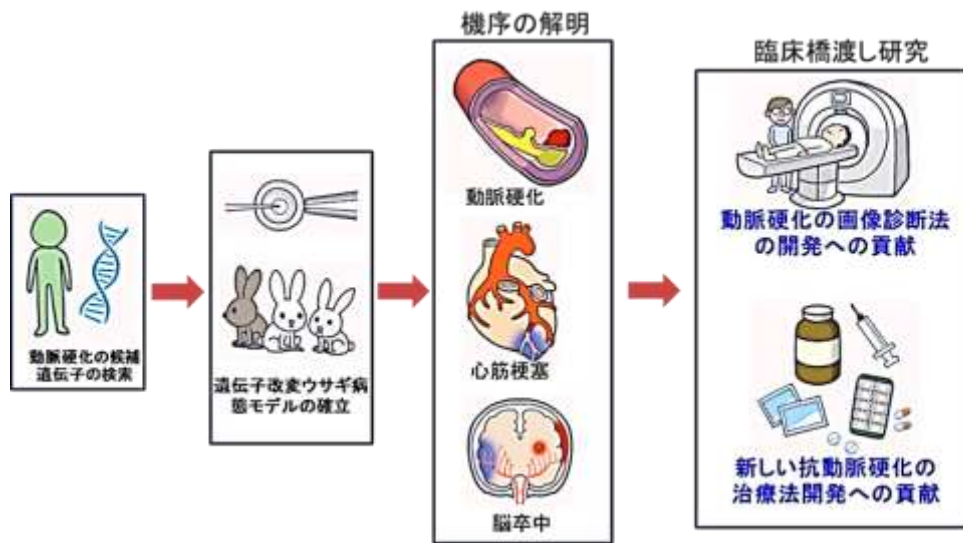
●高脂血症研究のための遺伝子改変ウサギモデル

動脈硬化危険因子として知られているのは、高値の血漿リポ蛋白 [Lp(a)]です。しかし、Lp(a)を持っているのは、ヒトをはじめとした霊長類とハリネズミなどの少数の種に限られているため、Lp(a)と動脈硬化の発生との関係については不明でした。そこで、我々は、Lp(a)の特有の構成蛋白であるアポ(a)遺伝子をウサギに導入して遺伝子改変ウサギを作製しました。ヒトアポ(a)遺伝子導入によって動脈硬化複合病変の形成を著しく増悪させ、Lp(a)の動脈硬化促進作用を初めて見出しました。また、ほとんどのリポ蛋白に含有するアポCIIIは、トリグリセリドを富むリポ蛋白である超低密度リポ蛋白質(VLDL)の上昇と正相関していることより、アポCIIIの合成阻害が高中性脂肪血症の治療ターゲットとして注目されるようになりました。この仮説を検証するために、我々は、ゲノム編集技術を用いたアポCIII欠損ウサギの作製を成功させ、アポCIIIの欠損によって、血漿中性脂肪ばかりでなく血漿コレステロールも減少し、動脈硬化の発症が抑制されることを証明しました。更に、数多くの疫学研究では、血漿“善玉コレステロール”とされているHDL-C値が動脈硬化のリスクと逆相関していることを示しています。長い間、血漿HDL-Cレベルの上昇は心血管機能を改善し、動脈硬化の進展を抑制することが示唆されてきました。HDL-Cを制御する因子であるコレステロール転送蛋白は、血漿VLDLやLDLからトリグリセリドを収集し、同時にHDL粒子からのコレステリルエステルと交換します。コレステロール転送蛋白の阻害が血漿HDL-Cを上昇させることができるかどうかを検討するために、我々は、コレステロール転送蛋白欠損ウサギを作製しました。コレステロール転送蛋白の欠損は、HDL-Cの上昇を促進させることだけでなく、コレステロール食に誘導された動脈硬化の発生にも抑制的な働きを示していることを見出しました。

●プラークの破裂可能なウサギモデルの作製

ヒトの動脈硬化は発症してから数十年にわたって無症状ですが、形成したプラークは一旦破綻しますと、血栓症を引き起こし、血管閉塞により心筋梗塞や脳梗塞といった合併症をきたします。我々は、動脈硬化病変の助長に関わるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)群に注目し、MMP-1(コラゲナーゼ)、MMP-9(ゼラチナーゼ)、MMP-12(エラスターゼ)に焦点を当て、マクロファージに特異的にMMPを高発現する遺伝子改変ウサギの作製に成功しました。病変内のマクロファージ由来のMMP-12の高発現は、動脈硬化の進展を促進することを見出し、その一方で、MMP-9の高発現は動脈硬化だけでなく血管石灰化の形成をも増強する機能を有することを突き止めました。更に高脂血症ウサギにミニポンプでのアンギオテンシンIIの注入により、腎血管性高血圧を同時に発症させることによって冠状動脈硬化と急性心筋梗塞ウサギモデルの作製にも成功しました。

今後は、これらのユニークな遺伝子改変ウサギモデルを活用して、新たな高脂血症治療法及び診断法を開発し、更なる展開の実現を目指したいと考えています。



第 110 回日本病理学会 宿題報告（令和 3 年度日本病理学賞）

「遺伝子改変ウサギモデルによる粥状動脈硬化の分子病態機構の究明及びトランスレーショナルリサーチへの展開」