

論文内容要旨

論文題目 遺伝性食後高トリグリセリド血症 (PHT) ウサギにおける
脂質代謝関連遺伝子発現の解析

所属部門： 分子疫学 部門

所属講座： 生化学・分子生物学 講座

氏名： 福田 直樹

【内容要旨】

【目的】近年、脳血管疾患・心疾患の危険因子として、メタボリックシンドロームが注目されている。山形大学医学部附属動物実験施設で開発された食後高トリグリセリド血症 (PHT) ウサギは、食後にのみ高トリグリセリド血症を呈し、ヒトのメタボリックシンドロームのモデル動物として研究が進められてきたが、その病態発症機構は未だ明らかになっていない。本研究では、PHT ウサギの脂質代謝異常に関わる原因遺伝子を明らかにすることを目的とし、関与が考えられる 9 種類の脂質代謝関連遺伝子について、それらの mRNA の発現レベルを調べ、PHT ウサギと正常対照の間で比較解析した。

【材料と方法】PHT ウサギと正常対照として日本白色種 (JW) ウサギ 10 匹ずつを用いて、絶食時と食後における、9 種類の脂質代謝関連遺伝子の mRNA の発現量を定量的 PCR により測定し比較した。発現レベルに顕著な違いの見られた肝性リパーゼ (HTGL) については、遺伝子のエクソンの大部分並びにプロモーター領域を含む 5' 上流領域の塩基配列を決定し、さらに酵素活性の測定を行った。また脂肪酸合成酵素 (FAS) については、cDNA の塩基配列を決定した。

【結果】PHT ウサギは対照と比較して、脂質合成過程に関わる SREBP-1 mRNA および FAS mRNA の発現がそれぞれ、絶食時、食後に増加していた。脂質輸送に関わる遺伝子の mRNA 発現は対照と有意な差を認めなかったが、脂質分解に関わる HTGL mRNA の発現は、絶食時と食後の両条件で有意に低下していた。脂質取り込みに関わる LDLR mRNA の発現は食後に増加した。以上の結果から、PHT ウサギの食後高 TG 血症発症に HTGL が重要な役割を担っていることが示唆されたため、これについて、さらに検討した。血液中の HTGL 活性を測定したところ、PHT ウサギでは対照と比較して有意に低値を示した。そこで PHT ウサギにおける HTGL 遺伝子のエクソン領域と、プロモーターを含む 5' 上流領域の約 1 kb の塩基配列を決定した。その結果、HTGL の第5エクソン領域に1塩基置換を見出したが、コードするタンパク質のアミノ酸置換を伴わない変異であった。5' 上流領域については、両系統間で塩基配列に違いは認められなかった。

【考察】PHT ウサギでは食後に FAS mRNA の発現が増加し、HTGL mRNA の発現は低下することが分かった。さらに HTGL 活性の低下も確認されたことから、これらの遺伝子発現異常が PHT ウサギの脂質代謝異常に関る可能性が示唆された。HTGL 遺伝子の1塩基置換は、アミノ酸置換を伴わないため酵素活性には影響を与えないが、mRNA の安定性への関与などについては検討が必要である。PHT ウサギの遺伝的病因の解明には、塩基配列の決定されていない遺伝子領域を含めた解析を行い、HTGL 遺伝子の発現低下の機構を明らかにする必要がある。

平成 23年 1 月 26日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 福 田 直 樹

論 文 題 目： 遺伝性食後高トリグリセリド血症 (PHT) ウサギにおける
脂質代謝関連遺伝子発現の解析

審 査 委 員 : 主審査委員

藤 井 順 逸



副審査委員

加 藤 丈 夫



副審査委員

中 村 孝 夫



審査終了日：平成 23年 1 月 25日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

内臓脂肪の蓄積ならびに脂質代謝異常・高血圧・高血糖が関係するメタボリックシンドロームは、動脈硬化性疾患の危険因子として注目されている。メタボリックシンドロームの成因と関連疾患の発症機構を解明するためには、ヒトの病態に近いモデル動物を用いた解析が必要である。そうした観点から、遺伝性食後高トリグリセリド血症 (PHT) ウサギの病態が解析されてきたが、未だその病因の解明には至っていない。本研究は、PHT ウサギの本態である、食後高グリセリド血症をもたらす遺伝的要因を明らかにする事を目的として行なわれた。

PHT ウサギと対照の日本白色種 (JW) ウサギそれぞれについて、トリグリセリドならびにコレステロールの測定を行い、脂質の合成・輸送・分解・細胞への取り込みの各段階に関わる9種類の遺伝子について、各種臓器における発現を RT-PCR および定量的 PCR により解析した。その結果、PHT ウサギでは脂質合成に関連する SREBP-1 ならびに FAS mRNA の発現が亢進していた。血中における脂質輸送に関わる遺伝子の発現には大きな違いは認められなかったが、リポタンパク質の脂質を分解する HTGL の発現が PHT ウサギでは著しく低い一方で、脂質の細胞内取り込みを担う LDLR の発現は亢進していた。mRNA の発現低下の著しい HTGL の活性を測定したところ、mRNA 発現量に一致して低い HTGL 活性が認められた。発現量に顕著な違いの見られた原因を明らかにするために、JW と PHT ウサギの FAS cDNA ならびに HTGL cDNA およびプロモーターを含む 5' 上流領域の約 1,000 塩基について PCR 増幅し、その塩基配列を決定した。しかし、FAS ならびに HTGL の発現や活性に影響を与えると考えられる変異は見いだせなかった。

本研究では、PHT ウサギの病態に関わると考えられる FAS と HTGL の二つの候補遺伝子を見出すことはできたが、それらの遺伝子変異は検出されておらず、遺伝的要因の解明には至っていない。しかしながら、ウサギのゲノム DNA の塩基配列はまだ解明されておらず、今回検討した遺伝子についてもその幾つかは不明な中で、脂肪酸の合成に関わる FAS の発現亢進と、分解に関わる HTGL の発現ならびに活性の低下を見出した事は、遺伝的要因を解明する上で大きな進歩と考えられる。

以上のように、目的とした PHT ウサギの遺伝的要因の確定には至っていないが、その解明に向けて大きな進展をもたらした研究であることから、本論文は博士 (医科学) の学位論文にふさわしいと判断した。

(1, 200字以内)