

氏名(本籍)	かしわ 柏	まこと 誠	(茨城県)
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第1,735号		
学位授与年月日	平成9年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	小腸および肝臓を標的としたアシル CoA : コレステロールアシル転移酵素阻害薬の薬理作用に関する研究		
主査	筑波大学教授	薬学博士	相良悦郎
副査	筑波大学教授	薬学博士	後藤勝年
副査	筑波大学教授	医学博士	田中直見
副査	筑波大学教授	医学博士	渡邊照男
副査	筑波大学助教授	医学博士	内田和彦

論文の内容の要旨

(目的)

アシル CoA: コレステロールアシル転移酵素 (ACAT) はミクロソームに存在する膜蛋白であり、コレステロールのアシル化反応を触媒しエステル型コレステロールを産生する酵素である。小腸をはじめとして肝臓、動脈壁、および副腎など多くの組織での ACAT 活性の存在が確認されている。小腸からの食餌性コレステロールの吸収はこの酵素の生理学的意義の一つとして重要であり、その阻害薬は脂質低下薬として期待されてきた。しかしながら、ACAT は副腎皮質におけるステロイド合成や、肝臓におけるリポ蛋白分泌などに関与することも知られ、ACAT 活性の抑制が各々の組織における脂質代謝やその他の生体機能に与える影響については、未だ十分に解明されていない。

本研究では、著者らの研究室で新たに発見した ACAT 阻害薬を用いて、その有用性と安全性を評価するため、小腸、肝臓、血管壁の各組織における ACAT 阻害作用の生体に与える影響ならびに ACAT の役割に関する検討を行った。

(対象と方法)

1, 3 -bis [[1 -cycloheptyl- 3 - (p-dimethylaminophenyl) ureido] methyl] benzene dihydrochloride (YM 17 E) は、著者らの研究室で合成した。ACAT 活性測定、細胞または組織からの脂質の抽出、組織中コレステロールの定量、および血漿中 YM 17 E 未変化体濃度の測定は、それぞれ Heider ら (1983), Folch ら (1957), Zak ら (1957) および Uchida ら (1994) の方法を一部改変して行った。ラットにおける YM 17 E のコレステロール吸収および異化排泄に対する作用は、放射標識体によるトレーサー実験で検討した。LDL 受容体 mRNA 発現はノーザンブロットにて解析した。各化合物の下痢誘発試験はビーグル犬で検討した。タウロコール酸の腸管壁への取り組みはラット回腸反転モデルで検討した。In vivo リポ蛋白分泌は Triton 誘発高脂血症ラットモデルで検討した。血清コレステロール濃度および大動脈粥腫面積に対する YM 17 E の作用は、高コレステロール食負荷ウサギおよび内因性高コレステロール血症ウサギで検討した。酢酸、グリセロールおよびオレイン酸からの各脂質分子種の合成に対する各化合物の作用は、培養細胞におけるトレーサー実験で検討した。

(結果)

YM 17 E はウサギ肝臓および小腸ミクロソームの ACAT 活性に対して強い阻害作用を示し、高コレステロール食負荷ラットにおいても強い血清コレステロール濃度の低下作用を示した。また、ヒト肝癌由来の HepG2 細胞において LDL 受容体の mRNA を低下させた。YM 17 E はイヌにおいて血清コレステロール濃度を低下させる用量で下痢を誘発させ、この作用は化学構造の異なる ACAT 阻害薬の YM 750 ではより顕著であった。YM 17 E はラット肝臓中のトリグリセリドを増加させた。また、Triton WR-1339 誘発高脂血症ラットにおける肝臓からのリポ蛋白分泌を抑制した。一方、HepG2 細胞におけるトリグリセリドの合成には影響を与えなかった。YM 17 E は高コレステロール食負荷ウサギの大動脈の粥腫形成を抑制したが、内因性高脂血症ウサギの大動脈の粥腫形成に対する抑制作用は微弱であった。また、マクロファージ系細胞株およびウサギ血管壁の ACAT に対する阻害活性は、小腸および肝臓の ACAT に対する阻害活性に比較して非常に弱かった。

(考察)

YM 17 E が示した強い血清コレステロール濃度の低下作用は、小腸からのコレステロール吸収抑制、および肝臓から胆汁へのコレステロールの異化排泄促進作用に基づいていることから、YM 17 E は小腸および肝臓を標的組織とする ACAT 阻害薬であることが明らかになった。YM 17 E は LDL 受容体の mRNA を低下させたことから、肝臓における血清 LDL の取り組みを抑制する可能性が示唆された。YM 17 E によって下痢が誘発される原因として、YM 17 E がコレステロール吸収抑制作用、脂肪酸吸収抑制作用、胆汁酸合成促進作用、および回腸粘膜における胆汁酸透過性亢進作用をもつことから、ACAT 活性の抑制と下痢の関連性が示された。YM 17 E による肝臓トリグリセリドの増加は、リポ蛋白の分泌低下に基づいていることが示され、ACAT 活性の抑制と脂肪肝の関連性が示唆された。YM 17 E による大動脈粥腫形成に関して、小腸および肝臓の ACAT が外因性的高コレステロール血症における大動脈粥腫形成に深く関与していることが、また内因性的高コレステロール血症における大動脈粥腫に対する寄与が少ないことが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

アルシ CoA : コレステロールアシル転移酵素 (ACAT) はミクロソームに存在する膜蛋白であり、コレステロールのアシル化反応を触媒し、エステル型コレステロールの産生に関与している。ACAT は小腸をはじめとして肝臓、動脈壁、副腎など多くの組織で、その酵素活性が確認されており、特に小腸からの食餌性コレステロールの吸収はこの酵素のもつ生理学的意義として重要であるため、その阻害薬は脂質低下薬として期待されてきた。しかしながら、ACAT は副腎皮質におけるステロイド合成や、肝臓におけるリポ蛋白分泌などにも関与することから、ACAT 活性の抑制が各々の組織における脂質代謝やその他の生体機能に与える影響が懸念されている。

本研究は、著者らの研究室で新規に合成された合成物 YM 17 E を用いて、その ACAT 阻害作用に関して有効性と安全性を探索したものである。特に、小腸および肝臓の ACAT 阻害が食餌性高コレステロール血症において血清コレステロール濃度の低下に有効であることを解明した一方、小腸および肝臓 ACAT の阻害が同時に下痢を誘発する危険性を示唆した。

また肝臓の ACAT 阻害が脂肪肝を誘発する危険性のあることを示し、さらに YM 17 E による ACAT 阻害が外因性高コレステロール血症の大動脈粥腫形成を抑制することを明らかにした。

この ACAT 阻害薬のコレステロール代謝への影響に関する新しい知見を得たことは、薬理学的に有意義な研究であると高く評価できる。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。