

氏名(本籍)	ひら 平	やま 山	たけし 剛	(茨城県)
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第4178号			
学位授与年月日	平成18年11月30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	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Hypercholesterolemia in Rats With Hepatomas : Increased Oxysterols Accelerate Efflux But Do Not Inhibit Biosynthesis of Cholesterol (肝臓移植ラットにおける高コレステロール血症：増加したオキシステロールはコレステロールの分泌を促進させるが、合成は抑制しない)			
主査	筑波大学教授	医学博士	川上	康
副査	筑波大学教授	理学博士	石井	哲郎
副査	筑波大学教授	博士(理学)	入江	賢児
副査	筑波大学教授	医学博士	須磨崎	亮
副査	筑波大学助教授	博士(医学)	島野	仁

論文の内容の要旨

(目的)

肝細胞癌の paraneoplastic syndrome として、高コレステロール (CHOL) 血症が知られている。癌細胞からの CHOL 分泌が亢進しているためとの報告があるが、詳細は不明であった。近年明らかにされた分子生物学的な CHOL の合成、分泌、異化調節機構に基づいて、肝細胞癌移植ラットでの高 CHOL 血症発症メカニズムを検討した。

(対象と方法)

Morris hepatoma7777 (McA-RH7777) 細胞をラットの腹壁皮下に 4×10^6 個移植し、4週間後に肝臓、腫瘍、血液を採取した。ステロール、胆汁酸濃度および酵素活性は高分解能 GC/MS 法にて定量し、蛋白発現は Western blot 法にて評価した。また、mRNA の定量は Real-time PCR 法にて行い、total RNA あたりの発現量にて補正した。

(結果)

4週間後に腫瘍サイズは 5.5 ± 1.7 g (n=4) となり、血清 CHOL 濃度は 60 ± 2 mg/dl から 90 ± 2 mg/dl と対照の 1.5 倍に増加した。組織から血中へ CHOL を分泌するトランスポーターである ATP-binding cassette transporters A1/G1 (ABCA1 および ABCG1) の発現は mRNA レベル、蛋白レベルのいずれも腫瘍組織では対照肝に比べて著増していた。ABCA1 と ABCG1 の発現を正に制御する核内レセプター liver X receptor α (LXR α) の発現は、mRNA レベルでは腫瘍組織と対照肝の間に差は認められなかった。しかし、ABCA1, ABCG1 以外の LXR α 標的遺伝子 (ABCG5, ABCG8, SREBP1c, SR-BI) の発現も、腫瘍組織では対照肝に比べて著増していた。また、LXR α のリガンドであるオキシステロールの濃度を定量したと

ころ、24S-hydroxycholesterol, 24S, 25-Epoxycholesterol, 27-hydroxycholesterolはいずれも腫瘍組織で増加していた。次に腫瘍組織中オキシステロールの増加原因を明らかにするために、オキシステロール合成系 (CHOL 合成系) と分解系 (胆汁酸合成系) の評価を行った。CHOL 合成系を促進する転写因子 sterol regulatory element-binding protein (SREBPs) およびその制御蛋白群 (SCAR, INSIG-1, INSIG-2) の遺伝子発現は、いずれも腫瘍組織で5倍以上に増加していた。一方、胆汁酸合成系に関しては、腫瘍組織では対照肝に比べて胆汁酸濃度は低下し、それに伴って胆汁酸合成にフィードバックをかける核内レセプター FXR/SHP 系も不活性化されていた。しかしそれにもかかわらず、胆汁酸合成系の促進は認められなかった。

(考察)

組織から血中へ CHOL を分泌するトランスポーターである ABCA1 および ABCG1 の発現が腫瘍組織では対照肝に比べて著増していた。そのことが、肝癌移植ラットで腫瘍から血中への CHOL 分泌が亢進し、結果として高 CHOL 血症を呈するメカニズムであると考えられた。それでは腫瘍組織で ABCA1 および ABCG1 の発現が増加するのはなぜか？ ABCA1 と ABCG1 の発現を正に制御する核内レセプター LXR α の活性化状態を他の LXR α 標的遺伝子 (ABCG5, ABCG8, SREBP1c, SR-BI) の発現と、リガンドであるオキシステロールの濃度で評価したところ、腫瘍組織ではいずれも増加していた。すなわち腫瘍では、オキシステロールの増加による LXR α の活性化が CHOL 分泌亢進の原因と考えられた。それではなぜ腫瘍組織でオキシステロールが増加しているのか？ オキシステロール合成系 (CHOL 合成系) と分解系 (胆汁酸合成系) の評価を行ったところ、腫瘍組織では合成系の亢進と分解系の抑制の両者が認められた。オキシステロールは SREBPs の活性化を抑制し、CHOL 合成にフィードバックをかけることが知られているが、腫瘍組織では SREBPs およびその制御蛋白群が増加しているため、フィードバック制御をかけるためにより多くのオキシステロールを必要とする。すなわち腫瘍組織では、細胞内により高濃度のオキシステロールが存在する状態でコレステロール合成系が平衡化しているものと考えられた。一方、胆汁酸合成系抑制のメカニズムに関しては、LXR α の活性化と FXR/SHP 系の不活性化はいずれも胆汁酸合成促進の方向に作用するはずであるが、胆汁酸合成酵素群の発現はそれらに全く反応せず、著明に抑制されていた。さらに上流の遺伝子による胆汁酸合成抑制メカニズムが働いている可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究により McA-RH7777 移植ラットにおける高 CHOL 血症は、腫瘍組織中に蓄積したオキシステロールによって LXR α が活性化し、そのため ABCA1 と ABCG1 の発現が亢進していることが原因であることが示唆された。またオキシステロールの蓄積は、SREBPs およびその制御蛋白群の発現亢進と、胆汁酸合成酵素群の発現低下が原因であることが示唆された。肝癌に伴う高コレステロール血症の病態解明および高コレステロール血症治療の基礎研究として価値ある論文である。

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。