

第2章 研究の背景

2.1 リポ蛋白リパーゼ

リポ蛋白リパーゼ (lipoprotein lipase, LPL) は分子量約 60~70 kD の糖蛋白質である。この酵素は 1943 年 Hahn により、イヌにヘパリンを静注することで食事由来の血中の脂質が消失することから、“clearing factor”として最初に発見された[1]。この際、血漿そのものにヘパリンを混和しても同様の減少は起こらなかったことから、ヘパリンを生体に静注することで、その原因となる物質が血中に放出されることが想定された。この物質は最終的に中性脂肪のリパーゼと判明するのだが、高密度リポ蛋白 (high density lipoprotein, HDL) の存在下で活性化されるのでリポ蛋白リパーゼと名付けられた[2]。ヘパリンで放出される酵素には、他に肝リパーゼ (hepatic lipase, HL) があり、表 2-1 に LPL と HL の特性を対比して示した。また、LPL は HDL に含まれるアポ蛋白 C-II (apo C-II) によって活性化されることが知られている。

2.1.1 LPL の分子生物学的背景

LPL は脊椎動物に広く存在している。LPL の cDNA はヒト[3]、ウシ[4]、マウス[5]、モルモット[6]でクローニングされているが、その相同性は極めて高い。また、HL や腓リパーゼの cDNA とも類似した構造を持ち、リパーゼ・スーパーファミリーを形成している[7]。

ヒトの LPL の遺伝子は 8 番染色体の短腕に位置し (8p22) , 全長は約 30 キロ塩基対 (kilo base, kb) であり、10 個の exon が含まれている。exon の 1 番から 9 番までは 105~276 塩基対 (base pair, bp) とほぼ長さがそろっているのに対し、10 番目の exon は 3'末端の全ての非翻訳配列を含んでいて 1948 bp の長さを持っている。exon 2 にはリポ蛋白と結合するタンパク質のドメインがコードされ、また exon 6 と 9 には塩基性アミノ酸が比較的多くコードされており、

表 2-1 LPL と HL の比較

	Hepatic lipase	Lipoprotein lipase
Gene	60 kb, 15q21	30 kb, 8p22
Protein	477 amino acids	488 amino acids
Molecular weight	66 kD	60-70 kD
Source	Liver	Adipose, Muscle, Macrophage
Substrates	CM rem, IDL, HDL	CM, VLDL
Co-factor	None	Apo C-II
+1N NaCl	Not inhibited	Inhibited

同じリパーゼ・スーパーファミリーに属し、非常に類似した特徴を持っている。

LPL は co-factor として apo C-II を必要とすること、1N NaCl の添加でリパーゼ活性が抑制されることが HL と異なっている。

酸性のヘパラン硫酸との相互作用で LPL を毛細血管上皮に結合させる役割を担っていると考えられている[8]。

ヒトの LPL cDNA は Wion ら[3]によってヒトの脂肪組織からクローニングされた。全長は 3155 bp で、5'末端側に 174 bp、3'末端側に 1556 bp の翻訳されない部分があり、最終的に 448 個のアミノ酸が合成される。

ヒトの LPL の立体構造[9]はリパーゼ・スーパーファミリーのうち、結晶化されて 3次元構造が解析されている豚リパーゼ[10]を基礎に研究が進んだ。LPL は N 末端側と C 末端側の 2つのドメインに分けられ、N 末端に触媒作用がある。N 末端側には可動性を持った 2つのループ構造 (β 5-loop : 第 54~63 アミノ酸残基, lid : 第 216~239 残基) が存在する。そして第 132 残基のセリン・

第 156 残基のアスパラギン酸・第 241 残基のヒスチジンが活性の triad を形成しており，これらに変異を起こすと，活性が完全に失われる。C 末端側ドメインは疎水性の β サンドイッチ構造を形成している。ヘパリンとの結合には第 279 残基のアルギニンから第 282 残基のアルギニンまでと，第 296 残基のリジンから第 297 残基のアルギニンまでの少なくとも 2 カ所が関与している。また第 313～448 残基ないし第 378～423 残基が LDL 受容体関連蛋白 (LDL receptor-related protein, LRP) と，また第 404～430 残基がヘパラン硫酸プロテオグリカン (Heparan Sulfate Proteoglycan, HSPG) と結合することが報告されている[11]。

2.1.2 LPL の合成・分泌

LPL は，活性のない前駆体として粗面小胞体で合成され，*cis*-ゴルジ体で *n*-アセチルグルコサミンが付加されることで活性化する。*trans*-ゴルジ体で完全に活性化された LPL が集積され，分泌型になった LPL は分泌小胞内に移る。ヘパリンなどの存在で，分泌小胞は細胞外に分泌される。分泌されないものはライソゾームで分解される。分泌された LPL は血管内皮細胞表面にある HSPG と高い親和性で結合する。ヘパリンの静注で LPL は HSPG から離れ，流血中に放出される (図 2-1)。

2.1.3. LPL の組織分布

LPL の産生はいろいろな間質細胞で確認されている (マウスの心臓・肺・脳・脂肪組織・小腸・肝臓[5]，ラットの脂肪組織[12]・副腎[5]，ヒトの脂肪組織[3]，ウシの乳腺組織[4]，モルモットの骨格筋・脾臓・乳腺・脂肪細胞・心臓[6]など) が，その主体は脂肪組織と筋組織である。筋組織としては平滑筋・心筋・骨格筋のいずれでも合成される。組織によって LPL の果たす役割は異なり，骨格筋・心筋では脂質を酸化代謝することによってエネルギーを産生し，白色脂肪

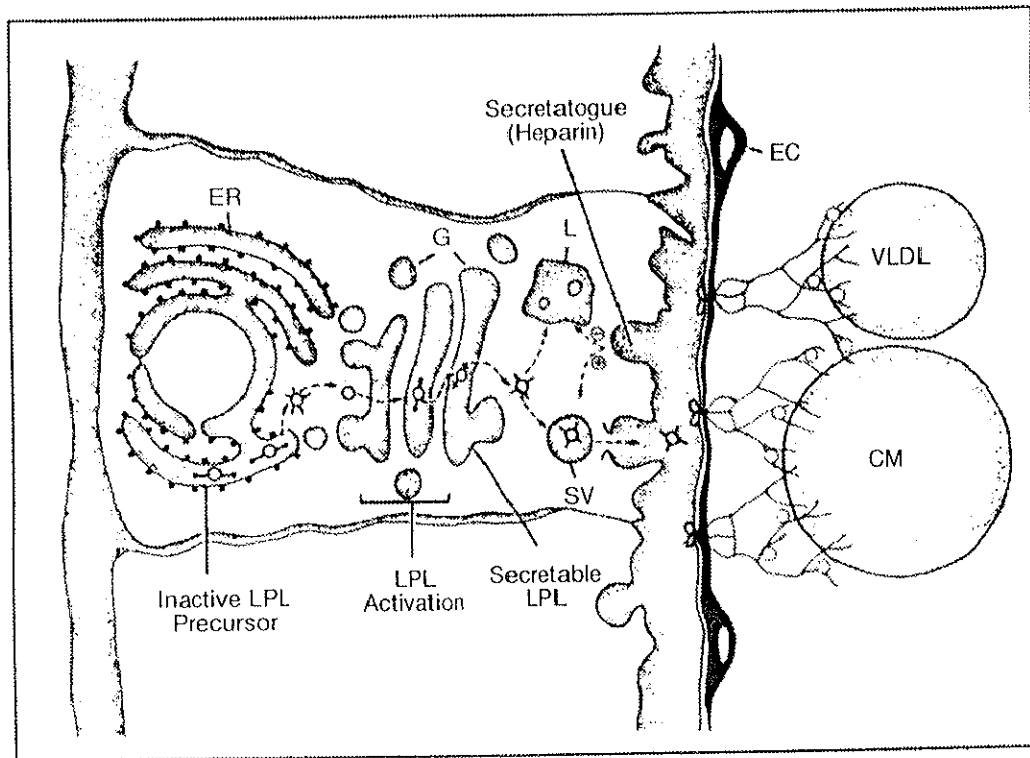


図 2-1 LPL の合成と放出[2]

粗面小胞体(ER)で合成された LPL (図中○) の前駆体がゴルジ装置(G)を通り、分泌小胞(SV)に運ばれて細胞外に放出される。放出された LPL は血管内皮細胞(EC)表面のプロテオグリカン(樹枝状の物体)に結合し、流血中の CM, VLDL と結合する。

細胞では分解により生成された中性脂肪を貯蔵している。分泌乳腺では乳汁中に中性脂肪を供給している(表 2-2)。

脂肪組織・筋組織では, LPL の産生は同じ生理的な状況でしばしば逆の方向に制御されている。例えば空腹やインスリンの存在下, すなわち脂肪の貯蔵を促進するような環境では脂肪組織の LPL 産生は促進され, 筋組織の LPL は抑制される。ヒト LPL cDNA の 3'末端側の非翻訳領域に polyadenylation が起こる部分が 2 カ所あるため, 2 種類の大きさの mRNA (3.2 kb と 3.6 kb) が合成

表 2-2 各臓器における LPL の役割[2]

Tissue	Functions
Muscle (cardiac, skeletal)	Energy provision
White adipose tissue	Triglyceride storage
Brown adipose tissue	Thermogenesis
Lactating breast	Milk triglyceride synthesis
Lung	Surfactant synthesis
Brain	Phospholipid, glycolipid synthesis
Adrenal, kidney, spleen, fetal liver and macrophage	Unknown

される。脂肪組織では2種類の mRNA が発現しているが、骨格筋・心筋では 3.6 kb の mRNA が優位に発現している。この 3.6 kb の mRNA の方が効率的に翻訳されていることが報告されており[13], 複雑な制御の一因になっていることが推測されている。

2.1.4 LPL の機能

2.1.4.1 LPL とリポ蛋白代謝

リポ蛋白代謝における LPL の作用は多岐にわたるが、その中でリポ蛋白に含まれる中性脂肪 (triglyceride, TG) を加水分解し、遊離脂肪酸とモノグリセライドに分離する作用が以前から知られていた。TG を多く含むリポ蛋白質

(TG-rich リポ蛋白) として、カイロミクロン(chylomicron, CM)と超低密度リポ蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)がある。CM は食事時の脂質から小腸粘膜上皮細胞で apo B-48, apo A-I, A-IV を含んだ形で合成される。小腸からリンパ管を通過した後、血中に入ると速やかに修飾を受け, apo E や apo C (C-II を含む) を HDL から受け取り, apo A-I, A-IV を HDL に渡して成熟した CM になる。VLDL は肝臓で apo B-100 と apo A-I を含んだ形で合成され,

CMと同じように血中で apo E や apo C を受け取る。

LPL は CM と VLDL を毛細血管内皮表面で加水分解するが、CM は直径が 500 nm もあるのに対し VLDL は直径 100 nm 程度であり、単位面積比からすると VLDL は CM に比べ、内皮表面の LPL に接触する機会が 25 分の 1 になってしまうことになる。したがって生体内での CM の半減期は 10 分程度だが、VLDL は 250 分と長い。また、apo E が HSPG と高い親和性を持つため、加水分解が始まって apo E が表面に露出するようになると、さらにこれらのリポ蛋白が HSPG と結合しやすくなる。CM は大きいので、apo E 露出の影響は小さいが、VLDL では apo E の露出が加水分解の効率に影響を及ぼす[14]。

CM・VLDL から TG が加水分解されて抜き取られるため、サイズが小さく、密度が高いレムナントリポ蛋白になり、apo C-II も放出される。その結果 CM はカイロミクロンレムナント(CM rem)になる。VLDL はさらにコレステリルエステル移送蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) によって、コレステリルエステルを HDL から受け取り、TG・リン脂質を HDL へ渡して、中間密度リポ蛋白質 (intermediate density lipoprotein, IDL) になる。IDL は HL の作用で LDL になる。最終的に CM rem は apo B48 受容体、LDL は LDL 受容体を介して肝臓に取り込まれ、代謝される。

加水分解されてできた遊離脂肪酸とモノグリセライドは再度 TG に合成され、脂肪細胞では貯蔵、筋細胞では酸化的代謝のエネルギー源として利用される。

LPL は TG-rich リポ蛋白以外に HDL の代謝にも関与している。肝臓で新規に HDL が合成される場合に、それを構成する各種脂質として LPL による脂質代謝での産物が利用されている[15]。また TG-rich lipoprotein の加水分解の際に放出される apo C-II が HDL₃ に渡り、より分子量が大きい HDL₂ に変化する。

2.1.4.2 LPL ノックアウトマウスにおける LPL の機能

Weinstock ら[16]はジーンターゲット法を用い、LPL が欠損したノックアウトマウスを作製した。homozygous の LPL ノックアウトマウスは、生下時すでにコントロールに比べ TG・VLDL とともに異常高値を示し、授乳開始に伴ってチアノーゼを起し、生後 18 時間で死亡した。剖検では全身の毛細血管が CM で充満しており、特に肺では CM が毛細血管の表面に付着して赤血球と血管内皮との接触を防いでいた。また脂肪組織・細胞内の脂肪滴の減少が見られた。heterozygous のノックアウトでは成体まで成長し、正常に比べ 1.5~2 倍程度の TG の上昇を認めた。この結果は LPL が TG 代謝以外に新生児の生存や脂肪組織の発育・脂肪細胞への脂肪の取り込みなどにおいても役割を果たしていることを示唆している。

2.1.4.3 触媒作用によらない脂質の取り込み・単球の接着促進

TG の加水分解は LPL の N 末端ドメインの重要な作用であるが、C 末端では加水分解の触媒作用と関係のない (Noncatalytic な) いくつかの作用がある。

Stein ら[17]は精製したリン脂質から人工的にリポソームをつくり、それを各種の培養細胞に与え、細胞へのコレステリルエステルの取り込みを観察した。apo E/B レセプターを持たないヒトの線維芽細胞にリポソームを投与し、そこへ LPL を添加すると、添加しないものに比べコレステリルエステルがより多く細胞に運ばれた。また Beisiegel ら[18]は HepG2 細胞を用い、CM rem が LRP に結合する作用を増強すると報告した。

細胞表面の HSPG は細胞外骨格であると同時に、細胞外マトリックスの接着蛋白と結合することで、細胞接着に関与している。培養したウシの大動脈内皮細胞に LPL をコートさせると、させないものに比べ、単球の接着が有意に多く、LPL の酵素活性を阻害するテトラヒドロリプスタチンを加えても単球の結合に変化はなく、LPL の存在が動脈内皮細胞と単球の接着を増強させる因子として

の働きを持つことが判明した[19]。

この2つの作用いずれもが、動脈硬化を進展させる可能性がある。

2.1.4.4 LDLの貯留

LPLはマクロファージや線維芽細胞[20]によるLDLの取り込みに関与し、また血管内皮細胞下にある細胞外マトリックス[21]にLDLを貯留させる働きがある。マクロファージでは、LDL受容体を介してLDLを細胞内に取り込む経路に比べ速度は遅いものの、細胞表面のHSPGに付着しているLPLがLDLと結合し、結合したまま細胞内に取り込まれていく。一方内皮細胞を通過したLDLは、内皮細胞下の細胞外マトリックスに存在するHSPG-LPL複合体に結合する。結合しないLDLは最終的にはリンパ行性に循環系に戻されるが、結合したLDLはそのまま貯留し、酸化されることで、より動脈硬化を促進する因子へと変化する。

2.1.5. LPLと疾患

LPLが欠損する病態として、先天的なものと後天的なものとが知られている[22]。

先天的LPL欠損症は常染色体劣性遺伝で、若年時から高脂血症（I型高脂血症）を引き起こす。検査所見としてCM高値（空腹時15 mmol/l以上）VLDL高値、HDL低値を認め、合併症として腹痛、膝炎、肝脾腫、eruptive xanthomas, lipaemia retinalisなどが見られる。

LPL遺伝子の変異は多岐にわたることが知られている。イントロンでの変異は、エクソンとの境界に近接して起こった場合にmRNAの成熟や代謝回転に影響を与えることがあるが、エクソンの変異に比べれば軽微であることが多い。現在なおエクソンの変異に関する発見が続いており、Murthyらの総説[22]によると71例が報告されている。LPLの機能の変化もさまざまで、あまり加水

分解の触媒作用が損なわれないもの (Ser172Cys など) , 臨床的にはI型高脂血症を起こすが, in vitro では LPL 蛋白・活性ともに存在が見られるもの (Asp9Asn) , わずか 19 個のアミノ酸残基のみで残りは欠損してしまうもの (11bp deletion-frameshift-termination) などがある。

二次的に LPL の活性を低下させる原因として, 急性エタノール中毒, インスリン依存性糖尿病, 甲状腺機能低下症, 慢性腎不全, ネフローゼ症候群などがある。

LPL は脂肪組織に豊富に存在しているので, LPL と肥満の関係についても検討されてきた。脂肪組織の LPL 蛋白量と body mass index (体重÷身長²) とは比例関係にあることが示されているが, ばらつきが大きい。脂肪組織での LPL 活性の上昇は肥満の原因になるという所見[23]は得られているが, まだこの仮説は完全なものではない。

2.2 動脈硬化と LPL

2.2.1 動脈硬化病変の形成

動脈硬化は小児期にすでにその初期変化が始まり[24], 病変が完成するまでに数十年かかる極めて慢性の疾患である。近年の研究はこの疾患が単なる退行性・萎縮性の疾患ではなく, 血管内皮細胞の障害, リポ蛋白の蓄積とその酸化, 単球・リンパ球の浸潤, 泡沫細胞の形成, 平滑筋細胞の増殖といった, 極めて多彩な過程からなるものであることを明らかにした。

一般的な仮説としては, 血中の LDL が酸化などの変性を受けて, 動脈の内膜に貯留し[25], そこへ血中の単球[26]と T リンパ球[27]が内皮細胞へ接着し, 内皮下に遊走する。マクロファージはプロテアーゼの産生, 活性酸素の産生, 活性脂質の産生, 走化性因子の放出など多彩な役割を果たし[28], さらに変性 LDL を取り込むことで泡沫細胞になる[29]。中膜の平滑筋細胞が内膜に遊走・増殖し, コラーゲンや細胞外マトリックスを産生・分泌することで内膜肥厚が進行する。さらに泡沫細胞の壊死・崩壊により脂質が貯留した lipid core が形成されることで, 粥状硬化病変が完成する (図 2-2[31])。粥腫表面の破綻によって血栓形成をはじめとする complicated lesion が形成され, 臨床的に急性冠状動脈症候群や脳卒中発作として重篤な結果を引き起こすようになる[30]。

2.2.2 LPL の動脈硬化発生に及ぼす影響

LPL が動脈硬化にどのような影響を与えているか, 以前から議論の対象であった。これは LPL の局在が広範で, その作用も多岐にわたることと, LPL そのものに動脈硬化の直接的な促進・抑制作用があるわけではなく, さまざまな作用因子を介して動脈硬化に影響を与えているので, その結果の評価が難しいことに由来している。

先天性 LPL 欠損症については前述したが, 初期の報告では CM 血症の患者は

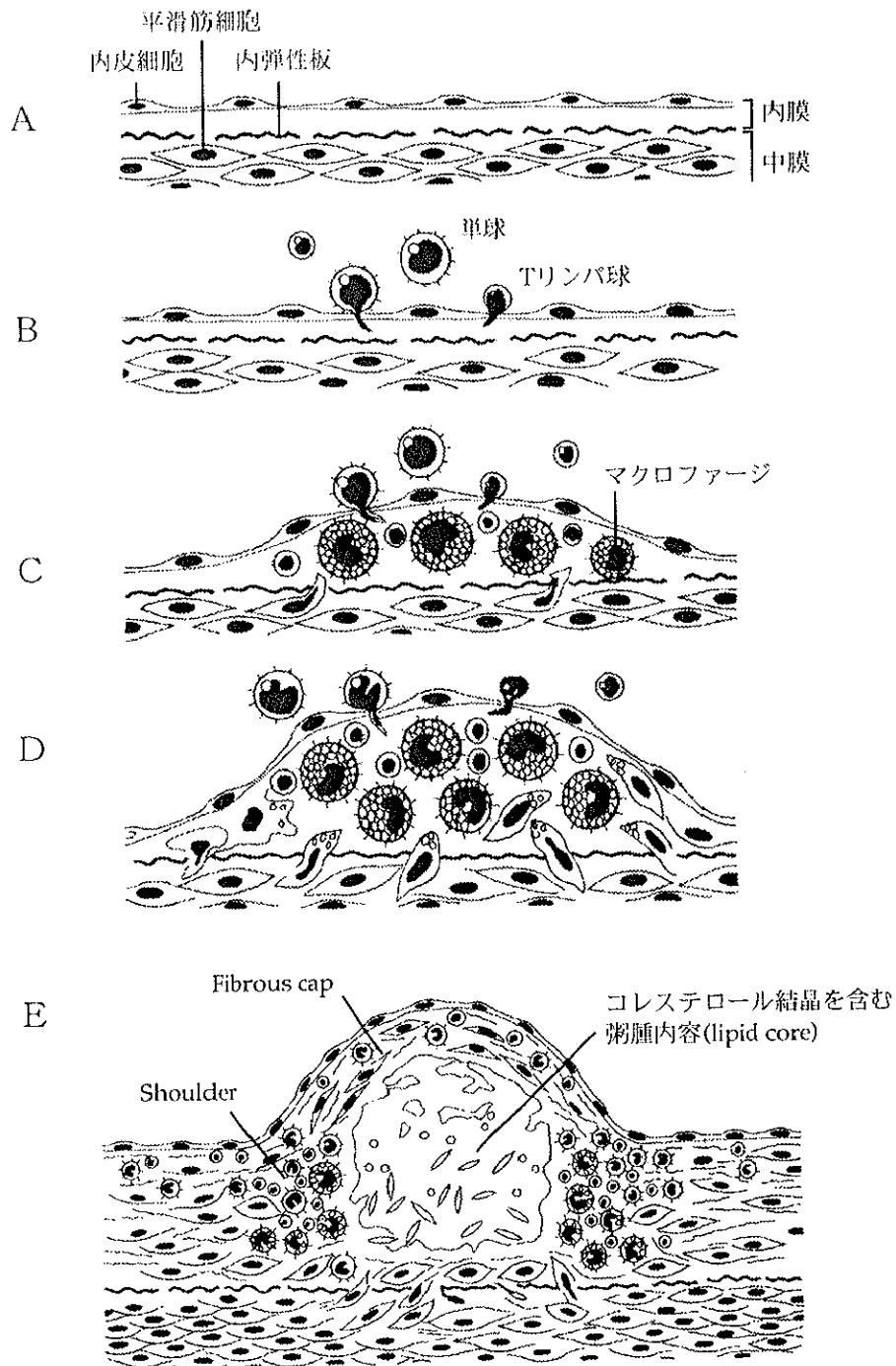


図 2-2 動脈硬化進展の組織像[31]

A: 正常 B: 単球・Tリンパ球の内皮細胞への接着, 内皮下への侵入 C: 内皮下の単球・マ
 クロファージの泡沫細胞化, 中膜平滑筋細胞の内膜への遊走 D: 泡沫細胞の崩壊・組織壊
 死・細胞外脂質の蓄積 E: 完成した粥状硬化病変

本研究では B が内膜肥厚, C, D が脂肪斑, E が粥腫性プラークにほぼ相当する。

反復する膵炎で予後が決定されていたためか、心血管疾患の合併はまれであるといわれていた[22]。近年 LPL 欠損症・高 CM 血症が動脈硬化に関連があるとする報告が見られている。虚血性心疾患の患者における Asn291Ser の変異の有無を検討した研究[32]では、Asn291Ser 群で有意な HDL コレステロール

(HDL-C) の低下があり、これが動脈硬化進展に関与していると考察している。また 4 人の家族性高 CM 血症患者を平均 20 年間にわたって追跡調査した報告[33]によると、食事・薬物療法にも関わらず全員が高 TG 血症・血中 HDL-C 低値・血中 LDL 低値を示し、55 歳以前に冠状動脈硬化・末梢動脈硬化を発症した。

Shimada らは LDL レセプターノックアウト(LDLRKO)マウスを作製し、それと LPL トランスジェニックマウスを交配して、両者の性質を持ったマウス(LPL/LDLKO)を作製した。LPL/LDLKO は LDLRKO マウスに比べ TG・コレステロールとも低値で、IDL・LDL が減少していた。動脈硬化食を負荷しても、コレステロールの上昇が LPL/LDLKO マウスで小さくなっており、動脈硬化病変の形成も軽度だったことから、LPL は食餌負荷による動脈硬化の進展を抑制すると報告した[34]。

Chiba らは 4-diethoxyphosphorylmethyl-N-(4-bromo-2-cyanophenyl) benzamide (NO-1886)[35]が、ラットやウサギでヘパリン静注後に LPL の活性を上昇させる作用を持つことを利用し、ウサギに NO-1886 を投与しながらコレステロール食を負荷した。コレステロール食と NO-1886 の同時投与群の血中の TG は正常食のウサギと同程度まで低下し、コレステロール食のみを投与した群に比べて動脈硬化の面積、動脈壁内のコレステロール・TG 含有量のいずれにも低下が見られたと報告した[36]。これは LPL が HDL の産生を促進するとともに血中の TG を低下させることにより、動脈硬化に対して抑制的に作用していると考察している。

以上の研究は、LPL による脂質代謝産物が HDL 合成に利用されている[15]

ために動脈硬化の進展が抑制されたと考察しているが、直接的な因果関係は十分証明されていない。

LPL がつくりだすレムナントリポ蛋白 (CM rem・IDL・LDL) が動脈硬化に重要な働きをしていることを最初に報告したのは Zilversmit である[37]。先に述べたとおり、血管内皮細胞表面の LPL が CM, VLDL を加水分解することにより、それらのレムナントリポ蛋白が作り出される。これらのレムナントリポ蛋白が動脈硬化を促進する因子であることの証拠として、Zilversmit[38]は、(1) 食事中的コレステロール量の増加により CM, CM rem のコレステロール含有量も増加すること、(2)コレステロール食を負荷したウサギは CM rem の上昇によって高コレステロール血症を呈すること、(3)III 型高脂血症の患者は血中の CM rem が増加していること、(4)コレステロール食負荷ウサギにおいて、動脈硬化病変の進展に伴い LPL が増加すること、(5)CM のコレステリルエステルは肝臓以外の組織で取り込まれていて、乳腺組織や脂肪組織では LPL の量に伴ってその取り込みが増加すること、(6)血中コレステロール値が同じレベルなら、ウサギにおいて CM rem は LDL や VLDL と同じくらいに動脈硬化を促進すること、(7)いくつかの動物種において、高コレステロール血症と動脈硬化に対する薬物・食餌治療が奏功した場合、血中の VLDL や IDL のコレステリルエステル/TG 比や apo E 量は上昇し、アガロース電気泳動での β 移動性が増強し、この変化はヒトやウサギでの CM rem の変化と同様である、という 7 点をあげている。

脂肪細胞や筋細胞と同じように、マクロファージも LPL を合成する[39, 40]。Lindqvist ら[41]は LPL による CM や VLDL の加水分解が、マクロファージによるリポ蛋白の取り込みに必要であることを示した。Stein ら[42]は LPL が LDL レセプターを介さずにリポ蛋白のコレステロールの取り込みを促進していることを、Aviram ら[43]は LPL が LDL レセプターを介した LDL の取り込みを増

加させることを報告した。

動脈硬化病変における LPL の組織学的な検討もなされている。Ylä-Herttuala ら[44]は *in situ* hybridization 法を用い、ヒトの大動脈の動脈硬化病変では、マクロファージと平滑筋細胞が LPL を合成しており、Watanabe-heritable hyperlipidemic (WHHL)ウサギの動脈硬化病変でも同様だったとした。さらに O'Brien ら[45]はヒトの冠動脈の検討から、LPL 蛋白はマクロファージ由来泡沫細胞、内皮細胞、中膜、外膜の脂肪組織に存在し、LPL mRNA は線維性プラークのマクロファージに存在するが、平滑筋細胞にはなかったことから、動脈硬化巣内では平滑筋細胞よりもマクロファージ、特にマクロファージ由来の泡沫細胞が LPL の主な供給源であるとした。

以上、LPL と動脈硬化の関係について、我々は、動脈壁の LPL がレムナントリポ蛋白を産生し、これが動脈硬化を進展させる働きがあること、また動脈硬化病変に存在するマクロファージ自体が LPL を産生しており、これが泡沫細胞化を促進させていることより、動脈硬化病変における LPL の存在は、病変を進展させる方向に作用しているという立場に立っている。

2.3 トランスジェニック動物モデル

2.3.1 トランスジェニック技術の歴史[46]

1970年代に組み換えDNAの技術が確立した。これは制限酵素などを用いて試験管内でDNAを操作することと、そのDNAを受容体である細胞に導入して発現させることからなり、たとえば大腸菌にヒトの遺伝子を導入して大量に増殖させたり、蛋白を合成させたりすることが可能になった。

1980年にGordonら[47]はSV40プロモーターに結合させたヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子を、マウスの受精卵の前核に細いガラス針で直接注入し（マイクロインジェクション法、後述）、その卵をメスの卵管に戻して出産させ、得られた仔マウス78匹のうち2匹に注入した遺伝子を確認した。

ついで1982年に、Brinsterら[48]はメタロチオネインプロモーターと結合させたラットの成長ホルモン遺伝子をマイクロインジェクション法で注入し、得られた21匹の仔マウスのうち7匹に遺伝子の導入を認め、そのうちの6匹は正常なマウスに比べ有意に体格が大きかった。これは哺乳動物に導入した遺伝子が、受容側の動物のDNAに組み込まれ、転写・翻訳によって蛋白質が合成され、生体内で作用することを明瞭に示した実験として注目された。

マウス以外の哺乳動物にもこの技術は応用され、Hammerら[49]はウサギ・ヒツジ・ブタでもトランスジェニック動物ができることを報告した。ラット[50]やウシ[51]でもトランスジェニック動物の報告がなされている。

トランスジェニック動物が開発され、最初に応用されたのは、クローン化された遺伝子が個体でどのように作用するかを解析することであった。従来ならば、遺伝子の機能は培養細胞で検討されてきたが、樹立継代細胞は増殖能が強く、正常な細胞とはいえないことや、培養細胞は通例単一系であり、個体の各種の細胞間の相互作用を検討することが困難であった。その点トランスジェニック動物は一度導入した遺伝子が全ての細胞に分布するので、ある遺伝子の作

用をまさに *in vivo* の状態で検討することができる。

さらに疾患病態モデルとしてのトランスジェニック動物の応用も急速に進んだ。従来の薬物などによる疾患病態モデル動物に比べ、より実際の疾患に近いモデルであるといえる。

2.3.2 トランスジェニックウサギと動脈硬化実験モデル[52, 53]

前述のようにいくつかの動物種でトランスジェニック動物の作製が報告されているが、多くの遺伝子制御と遺伝子発現の研究でマウスが利用されている。これはマウスが小さくて扱いやすく、系統化がなされており、遺伝子導入が容易で、繁殖期間が短いことなどによる。

ただし、動脈硬化実験モデルとしてマウスにはいくつかの欠点がある。CETP を欠くために HDL が高く、動脈硬化病変ができにくい特徴がある。さらにマウスは小さいため、動脈硬化病変の解析も困難である。これらの制限を克服するために、ウサギのような大型のトランスジェニック動物の開発が望まれていた。ウサギは高コレステロール食によく反応して高コレステロール血症が起こるため、短期間で動脈硬化病変の進展が認められる。また大型であるため実験や解析が容易である。また、1973 年に発見された WHHL ウサギ[54]は家族性高コレステロール血症を呈し、LDL レセプターが欠損[55]しているが、それとの交配で、高脂血症の遺伝素因を付加することも可能である。

1985 年の Hammer らによるトランスジェニックウサギの報告以後、*c-myc*[56]・ α_1 -アンチトリプシン[57]・Insulin-like growth factor-1[58]などを導入したウサギが作製されている。動脈硬化の研究においては、当研究室の Fan らが、カリフォルニア大学グラッドストーン研究所において初めて HL[59]、apo B-100[60]、apo B mRNA editing protein[61]、apo E[62]の遺伝子を導入したトランスジェニックウサギの作製に成功した。最近では lecithin-cholesterol acyl transferase (LCAT) [63]、15-lipoxygenase[64]、apo A-I[65]などを導入したウサ

ギの作製も報告されている（表 2-3）。

表 2-3 動脈硬化モデルとしてのトランスジェニックウサギの作製と
その応用に関する報告[53]

導入遺伝子	結果	報告者
ヒトHL	血漿活性～83倍	Fanら(1994)[59]
ヒトapo B-100	血漿濃度44～100 mg/dl	Fanら(1995)[60]
apoB-100 mRNA editing protein	肝細胞癌の発生	Yamanakaら(1995) [61]
ヒトapo E	血漿濃度～12 mg/dl	Fanら(1998)[62]
ヒト15-lipoxygenase	マクロファージ内活性24倍	Shenら(1995)[64]
ヒトLCAT	血漿活性～16倍	Hoegら(1996)[63]
ヒトapo A-I	血漿濃度～100 mg/dl	Duvergerら(1996)[65]
ヒトapo (a)	Lp(a)の形成	Fanら(in press)[85]
ヒトLPL	血漿活性～2.3倍	Arakiら(in press)[79]

トランスジェニックウサギ作製における問題点は、ウサギがマウスに比べ大型で、場所・経費を要すること、マウスに比べ妊娠期間が長いうえ、繁殖力が劣ること、技術的にマウスより遺伝子導入が困難で、技術的に未検討の点が多く、トランスジェニックの成功率が低いことがあげられる。