

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月13日現在

機関番号：82406  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：22591003  
 研究課題名（和文） HDLによる動脈硬化制御機構の解明－ABCA1/G1のタンパク分解制御の役割  
 研究課題名（英文） Role of ABCA1/G1 proteon degradation on HDL-mediated anti-atherogenesis  
 研究代表者  
 綾織 誠人 (AYAORI MAKOTO)  
 防衛医科大学校・病院・助教  
 研究者番号：70532464

研究成果の概要（和文）：動脈硬化巣マクロファージからのコレステロール搬出に関わるトランスporter ABCA1/G1 はポリユビキチン化を受け、プロテアソームで分解されることが明らかとなった。プロテアソーム阻害剤は ABCA1/G1 の発現を増大させ、マクロファージからのコレステロール搬出が促進すること、マウスにおいてコレステロール逆転送系の活性化をもたらすことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated that ABCA1/G1 was degraded via polyubiquitination in the ubiquitin-proteasome system (UPS). Furthermore, inhibition of the UPS using proteasome inhibitors enhanced both apoA-I- and HDL-mediated cholesterol efflux from macrophages by increasing ABCA1/G1 expressions. Finally, bortezomib, a proteasome inhibitor, promoted overall RCT in vivo in mice. These findings may ultimately provide the basis for a novel therapeutic strategy for atherosclerotic diseases.

### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	0	1,900,000
2011年度	800,000	0	800,000
2012年度	800,000	0	800,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：分子生物学

#### 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化性疾患における治療標的として HDL が注目されている。HDL は抗動脈硬化性リポタンパクで、その機序として末梢組織（動脈硬化巣）から余剰なコレステロールを搬出・運搬し、肝臓へと戻すコレステロール逆転送作用 (RCT) が考えられている。

HDL による細胞内コレステロール引き抜きに  
 関与する ABCA1 や ABCG1 は理想的な治療標的

である。しかし Liver X 受容体 (LXR) アゴニストによる転写活性化を介した ABCA1/G1 発現増大戦略脂肪肝・脂質異常を招来するため、現時点でのヒトへの応用は困難な状況にある。

そういった中、我々は ABCA1/G1 タンパク分解がプロテアソーム阻害剤で抑制されることを見だし、また、プロテアソーム阻害剤によりマクロファージ (MΦ) の ABCA1/G1 発現

が増大すること、HDL による MΦからのコレステロール引き抜きが増大することを確認した。

## 2. 研究の目的

プロテアソーム阻害剤投与の HDL の量/質的变化、RCT、および動脈硬化に及ぼす影響

## 3. 研究の方法

プロテアソーム阻害剤による HDL の量/質、代謝動態、in vivo RCT、動脈硬化に及ぼす影響

プロテアソーム阻害剤 bortezomib を下記の動物に投与し、1)-6)に示す検討を行う。

① C57BL6 マウス、②Syrian Golden ハムスター

1) 血清脂質解析：FPLC/HPLC によるリポタンパク解析、NMR リポタンパク解析

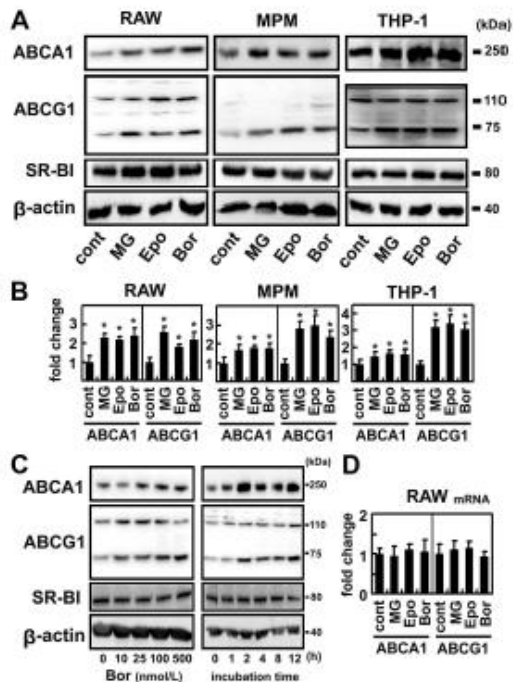
2) in vivo RCT アッセイ：[3H]コレステロール標識泡沫細胞をマウスに接種し、血中、肝臓、糞便の[3H]をカウントし RCT を評価する。

3) 各臓器のタンパク/mRNA 発現レベルの測定：腹腔 MΦ/肝臓/小腸/大動脈/脂肪織からタンパク/RNA を抽出し、イムノブロット/定量的リアルタイム RT-PCR 法で、脂質代謝関連分子の発現量を測定する。

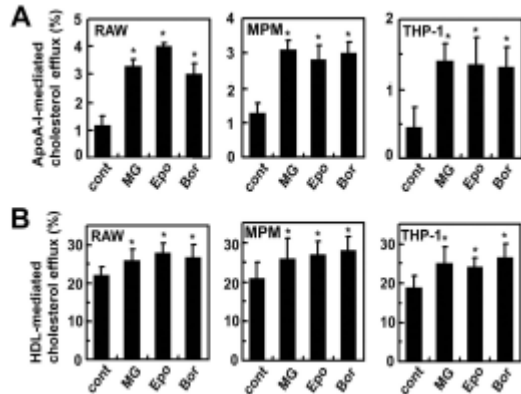
4) コレステロール食負荷ハムスターおよびアポ E 欠損マウスに bortezomib を反復投与し、一定期間飼育後屠殺、大動脈および大動脈根の動脈硬化面積を Oil Red O 染色により測定一部はパラフィン包埋/凍結切片作成に供し、病理/免疫組織学的検討を行う。

## 4. 研究成果

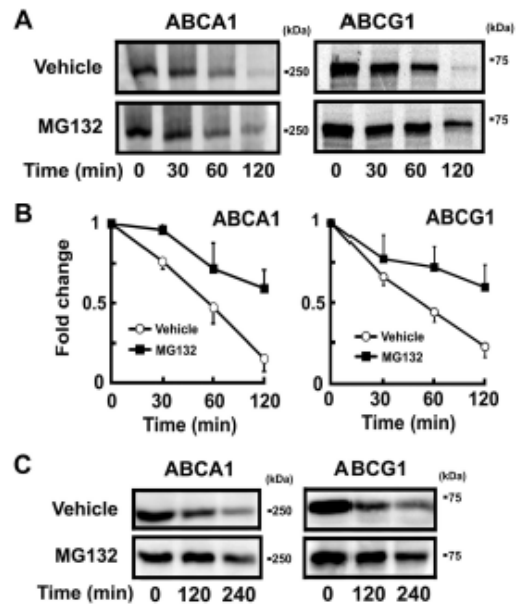
(1) MΦにおける ABCA1/G1 発現はプロテアソーム阻害により増大した：プロテアソーム阻害薬 bortezomib, epoxomicin, MG132 は濃度・時間依存性に MΦ ABCA1/G1 タンパク発現を増大させた (下図)。



(2) プロテアソーム阻害薬 apoA-I/HDL による MΦからのコレステロール搬出を促進した (下図)。

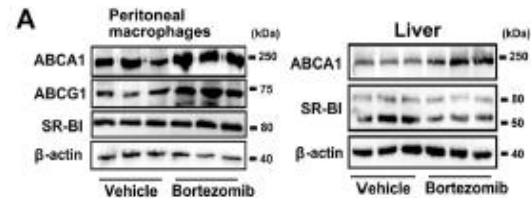


(3) プロテアソーム阻害により ABCA1/G1 タンパク分解が遅延した (下図)。

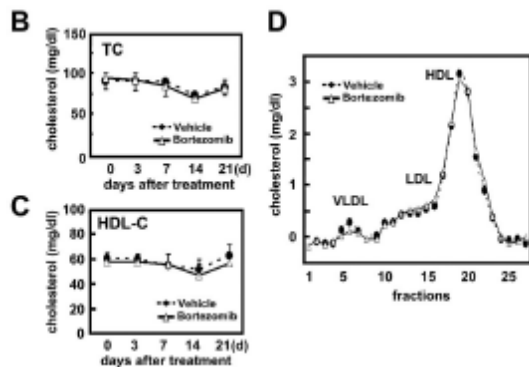


(4) ABCA/G1 はポリユビキチン化される。

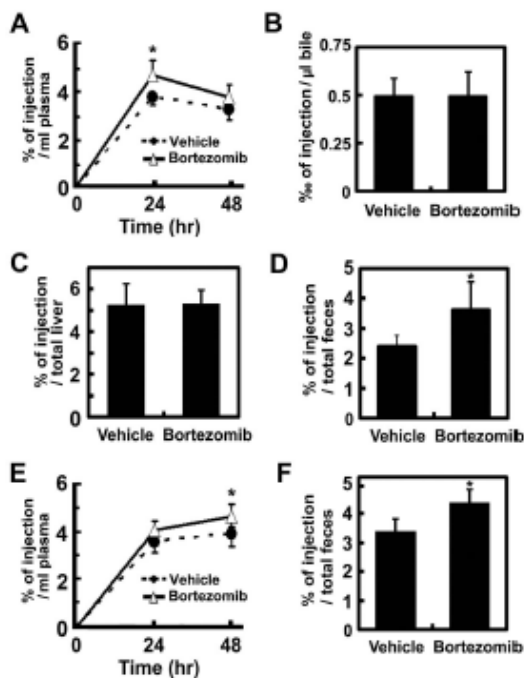
(5) マウスにおける bortezomib 投与により肝臓/MΦにおける ABCA1 発現および MΦ ABCG1 発現が増加した (下図)。



(6) マウスにおける bortezomib 投与により血清リポ蛋白は影響を受けなかった (下図)。



(7) マウスにおける bortezomib 投与により、*in vivo*における RCT は活性化した (下図)。  
 (8) マウスにおける bortezomib 投与により、動脈硬化に影響を及ぼさなかった。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① Ogura M, Ayaori M, Terao Y, Hisada T, Iizuka M, Takiguchi S, Uto-Kondo H, Yakushiji E, Nakaya K, Sasaki M, Komatsu T, Ozasa H, Ohsuzu F, Ikewaki K. Proteasomal inhibition promotes ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) and ABCG1 expression and cholesterol efflux from macrophages *in vitro* and *in vivo*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31:1980-1987. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.228478.
- ② Ayaori M, Yakushiji E, Ogura M, Nakaya K, Hisada T, Uto-Kondo H, Takiguchi S,

Terao Y, Sasaki M, Komatsu T, Iizuka M, Yogo M, Uehara Y, Kagechika H, Nakanishi T, Ikewaki K. Retinoic acid receptor agonists regulate expression of ATP-binding cassette transporter G1 in macrophages. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Apr;1821(4):561-72. doi: 10.1016/j.bbaliip.2012.02.004.

③ Nakaya N, Ayaori M, Uto-Kondo H, Sotherden GM, Nishida T, Katamoto H, Miura Y, Takiguchi S, Yakushiji E, Iizuka M, Ogura M, Sasaki M, Yogo M, Komatsu T, Adachi, T Maruyama C, Ikewaki K. Overexpression of stearoyl-coenzyme A desaturase 1 in macrophages promotes reverse cholesterol transport. *Biochim Biophys Acta.* 2013, in press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbaliip.2013.05.009>

- ④ 綾織誠人 リポ蛋白受容体—正常細胞と病的細胞における役割—細胞機能から新たな病態解明へ「動脈硬化と ABCA1」2013 (4)
- ⑤ 綾織誠人, 池脇克則 HDL による動脈硬化防御の分子機構—ABCA1/ABCG1/SR-BI の役割 医学のあゆみ 2010 234 巻 8 号 p.785-790
- ⑥ 小倉 正恒, 綾織 誠人, 池脇 克則 低 HDL コレステロール血症 (特集 脂質異常症診療の新しい展開) -- (脂質異常症の病態と治療) 臨牀と研究 88(10), 1247-1251, 2011-10
- ⑦ 綾織 誠人, 飯塚麻貴, 池脇 克則 ABCA1/G1 を介した糖・脂質代謝異常への介入: reverse cholesterol transport への介入の意義 糖尿病 54(3), 165-168, 2011-03-30
- ⑧ 飯塚麻貴, 綾織 誠人 低 HDL-C 血症と ABCA1/ABCG1 臨床化学 Vol.40 No.3 p 205-9

[学会発表] (計7件)

- ① 中家 和宏, 綾織誠人, 小倉正恒, 近藤春美, 池脇克則 The paradigm shift of HDL-targeted research—HDL functionality: rather than quantity-based approach—第43回日本動脈硬化学会学術集会(招待講演)2011年7月16日ロイトン札幌
- ② 小倉正恒, 綾織誠人 プロテアソーム阻害によるコレステロール逆転送系の活性化 第7回「糖尿病と血管障害を考える会」2011年12月10日クラブ関東
- ③ 小倉正恒, 綾織誠人, 池脇克則 Proteasomal inhibition promotes ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) and ABCG1 expression and cholesterol efflux from macrophages *in vitro* and *in vivo*. 「血管の科学」セミナー2011 2011年6月17日ホテルグランドパレス
- ④ 小倉正恒, 綾織誠人, 池脇克則 プロテアソーム阻害によるマクロファージ ABCA1/G

1発現増強およびコレステロール搬出能の活性化 第6回炎症・脂質代謝・メタボリサーチフォーラム 2012年1月28日東京大学

⑤ 小倉正恒、綾織誠人、近藤春美、池脇克則 Proteasomal Inhibition Promotes ABCA1 and ABCG1 Expression and Cholesterol Efflux from Macrophages in vitro and in vivo 第44回日本動脈硬化学会学術集会(招待講演) 2012年7月19日 ホテルシーホーク福岡

⑥ 小倉正恒 綾織誠人 Proteasomal Inhibition Promotes ABCA1 and ABCG1 Expression and Cholesterol Efflux from Macrophages in vitro and in vivo. 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会 ワークショップ 2012年7月19日ホテルシーホーク福岡

⑦ 綾織誠人、近藤春美、小倉正恒、池脇克則 The Paradigm Shift of HDL-Targeted Therapy: HDL Functionality- Rather Than Quantity-Based Approach 第77回日本循環器学会学術集会 プレナリーセッション2013年3月15日パシフィコ横浜

〔図書〕(計1件)

Ayaori M, Ikewaki K. Role of ATP-binding Cassette Transporters A1 and G1 in Reverse Cholesterol Transport and Atherosclerosis. HDL Hand Book, Second Edition 2013, in press

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

綾織 誠人 (AYAORI MAKOTO)  
防衛医科大学校・病院・助教  
研究者番号：70532464

### (2) 研究分担者

池脇 克則 (IKEWAKI KATSUNORI)  
防衛医科大学校・医学教育部医学科専門課程・教授

研究者番号：40287199

久田 哲也 (HISADA TETSUYA)

防衛医科大学校・医学教育部医学科専門課程・助教

研究者番号：70573856

近藤春美 (KONDO HARUMI)

防衛医科大学校・医学教育部医学科専門課程・助教

研究者番号：80401602