

令和 2 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09858

研究課題名(和文) 動脈硬化ハイリスク高中性脂肪血症のin vivo分子機構解明と新規治療標的創出

研究課題名(英文) Molecular mechanisms and therapeutic targets of atherogenic hypertriglyceridemia

研究代表者

岡崎 啓明 (Okazaki, Hiroaki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80610211

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：高中性脂肪(TG)血症は動脈硬化のリスクであるが有効な治療法に乏しい。高TG血症は遺伝的要因に環境要因が加わって発症・増悪するが、その分子機序は完全に明らかでなく、本研究課題ではその解明からの新規治療標的創出を目的とした。動脈硬化惹起性高TG血症の原因遺伝子apoA5に着目し、apoA5欠損マウスを用いることにより、1)環境要因(加齢、高炭水化物食など)により増悪する高TG血症のモデルマウスを確立、2)その分子機序を解明した。特に、これらの環境要因は、転写因子SREBP-1cを介して大型VLDLを産生することにより、高TG血症を惹起することを明らかにした。新規治療薬開発に道を開く知見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

最近の遺伝疫学的研究などから、高中性脂肪(TG)血症は高LDL-コレステロール血症に次ぐ大きな動脈硬化リスクであることが示唆されているが、未だ有効な治療法に乏しい。高TG血症の発症・増悪の分子メカニズムや治療標的が同定されれば、動脈硬化症の新たな治療法開発に道を開く。本研究では、動脈硬化惹起性高TG血症のモデルマウスを世界に先駆けて確立した。さらにこの独自の動物モデルを用いて、環境要因が高TG血症を増悪させる分子メカニズムを解明した。これらの成果は、高TG血症と動脈硬化の新たな創薬の基盤となる。糖尿病を始め、高TG血症が動脈硬化リスクとなる多くの患者に役立つ新たな治療薬の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：Recent genetic studies implicate a causative role of hypertriglyceridemia (HTG) in atherosclerotic diseases. However, effective therapeutic modalities are still lacking for HTG, and a better understanding of its molecular mechanisms is warranted. We focused on the APOA5 gene, which is one of the most dominant genes of atherogenic HTG. We established that apoA5 knockout mice can serve as an animal model of environment-induced HTG. Furthermore, we found that SREBP-1c, a transcriptional factor that regulates lipogenesis in the liver, plays an essential role in the environment (aging, high-carbohydrate diet, etc.)-induced HTG via the production of large-sized VLDL particles. These environmental factors activate the SREBP-1c-large VLDL pathway, and in the face of a genetic predisposition for delayed VLDL clearance (e.g., apoA5 deficiency) these large VLDLs accumulate in plasma, causing HTG. Further studies are underway to develop novel therapeutics to treat HTG and atherosclerosis.

研究分野：エネルギー代謝と動脈硬化

キーワード：動脈硬化 脂質異常症 高トリグリセライド血症 治療法開発 分子機構 遺伝子-環境連関

## 1. 研究開始当初の背景

高トリグリセリド (TG) 血症は、長らく動脈硬化の危険因子として注目されてきた。しかし、疫学研究からは、高 TG 血症と動脈硬化とに直接の因果関係があるのかは明らかではなかった。高 TG 血症に伴うことの多いその他の表現型—低 HDL 血症、肥満など—の方が、直接の因果関係にあるのではないかと考えられてきた。

しかし最近、高 TG 血症が動脈硬化を惹起することを示すヒトでのエビデンスが集積してきた。遺伝疫学的研究 (Mendelian randomization study) から、高 TG 血症の原因遺伝子 *APOA5* の変異は、高 TG 血症とともに動脈硬化のリスクとなることが示され (Sarwar N et al. *Lancet* 2010)、さらに、早発性心筋梗塞の原因遺伝子の探求から、動脈硬化ハイリスクの家族性高コレステロール血症の原因遺伝子 (*LDLR*) に次いで検出されたのが、*APOA5* (アポリポ蛋白 A-V) であったことから (Do R et al. *Nature* 2015) (図 1)、動脈硬化における高 TG 血症とその原因遺伝子の役割が改めて注目されている。*apoA5* 以外にも、*APOC3* 変異、*ANGPTL4* 変異、*LPL* 変異も、低 TG 血症とともに動脈硬化リスクを減少させることが示されている (Crosby J et al. *N Engl J Med* 2014; Jorgensen AB et al. *N Engl J Med* 2014; Stitzel NO et al. *N Engl J Med* 2016; Dewey et al. *N Engl J Med* 2016)。既に *APOC3* (Gaudet D et al. *N Engl J Med* 2014)、*ANGPTL4*、*LPL* を標的とした治療の開発も進められており、これら新規高 TG 血症治療薬は新たな動脈硬化予防薬としても期待されている (Cohen JC *Cell Metab* 2014)。

しかしながら、高 TG 血症の発症・増悪の分子メカニズムは未だ完全に明らかでなく、特に重要な遺伝子である *APOA5* を標的とした治療法は現時点ではない。

## 2. 研究の目的

そこで本研究課題では、

- (1) *apoA5* 異常による高 TG 血症のメカニズムの *in vivo* での解明
- (2) *apoA5* 異常による動脈硬化のメカニズムの *in vivo* での解明
- (3) *apoA5* 異常による高 TG 血症・動脈硬化の新規治療標的探索

を目的とし、分子メカニズムの解明から、新規治療法創出の基盤となる知見を目指した。

これまでのところ、*in vitro* の研究では、*apoA5* が血中 TG レベルを制御するメカニズムとして、以下が推察されている。① TG 含有リポ蛋白 (TG-rich lipoprotein (TGRL)) の受容体取り込み経路の促進、② TGRL の TG 加水分解 (リポ蛋白リパーゼ (LPL)) 経路の促進。本研究課題では、*apoA5* 欠損マウスを用いて、*apoA5* の血中 TG レベル制御における重要性を *in vivo* で明らかにする。これまでの研究では、*apoA5* 欠損マウスは既に樹立され報告されていたが、ヒトの *apoA5* 欠損 (TG 7,000 mg/dl 前後) と異なり、マイルドな高 TG 血症しか呈さないため (TG 400 mg/dl 前後) (Pennacchio LA *Science* 2001)、ヒトの疾患モデルとして適しているかどうか定かではなかった。本研究ではまず *apoA5* 欠損マウスのモデルとしての有用性を多角的に評価し、これを用いた *in vivo* 分子機序解明を試みた。

## 3. 研究の方法

*apoA5* 欠損マウスに、様々な環境負荷を加えることにより、ヒトの *apoA5* 欠損症 (Marçais C et al. *J Clin Invest* 2005) と同様の重度高 TG 血症をきたすかどうか検討した。重度高 TG 血症が *apoA5* 欠損マウスモデルで再現できた場合には、その分子機序の *in vivo* 解明を行う。申請者は以前に、脂質合成を制御する核内受容体 SREBP-1c は、肝臓での大型 VLDL 産生を介して、環境要因 (LXR アゴニスト刺激) による高 TG 血症増悪に重要な役割を持つことを示唆する研究成果を得ていた (Okazaki H et al. *J Biol Chem* 2010))。そこで、SREBP-1c 欠損マウスを用いて、仮説：「SREBP-1c による大型 VLDL 産生が、*apoA5* の高 TG 血症発症に必須」を検証する。さらに、SREBP-1c 経路のうち、特に高 TG 血症の制御に重要な標的遺伝子を、定量的 PCR や microarray 解析などを用いて、探索することにより、創薬起点の探索を行う。

## 4. 研究成果

- (1) *apoA-V* 欠損マウスを用いて、環境要因による高 TG 血症増悪のマウスモデルを確立した。高 TG 血症のマウスモデルのほとんどは、胎生致死、新生児死、あるいは生下時からの重度高 TG 血症を来してしまう (*LPL* 欠損、*apoC-II* 欠損、*GPIHBP1* 欠損、*LMF1* 欠損) が、唯一 *apoA-V* 欠損だけは生下時に軽度から中等度の高 TG 血症 (~400 mg/dl 程度) にとどまる。*apoA-V* 欠損マウスに、様々な環境要因を加えたところ、加齢、高炭水化物食、脂肪負荷などによって、ヒトと同様の重度な高 TG 血症をきたすことを見出した。また、臨床的に、様々な薬剤も重度高 TG 血症をきたす環境要因として重要であるが、核内受容体 LXR のアゴニスト

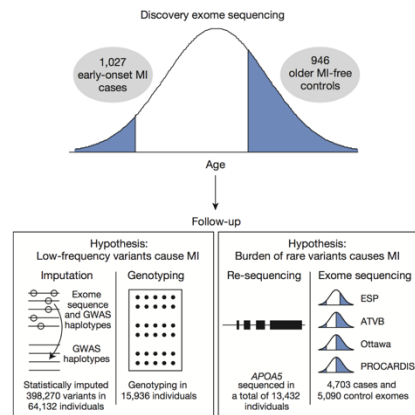


図 1 Mendelian randomization study から早発性心筋梗塞の遺伝子として、*LDLR* の次に *APOA5* が同定された。

Do R et al. *Nature* 518, 102-106, 2015

- (T0901317) は、apoA-V 欠損マウスの高 TG 血症を著しく増悪させる (~4,000 mg/dl) ことも見出した。
- 次にこの apoA-V 欠損マウスモデルを用いて、環境要因による高 TG 血症増悪の分子メカニズムを探索した。核内受容体 LXR は、脂質合成系のマスターレギュレーターである転写因子 SREBP-1c を正に調節することが知られている。LXR アゴニストによる apoA-V 欠損マウスにおける重度高 TG 血症の誘発が、SREBP-1c を介している可能性を検証するため、apoA-V;SREBP-1c 両欠損マウスを樹立し、解析した。その結果、LXR アゴニストによる重度高 TG 血症は、SREBP-1c の欠損によりほぼ完全に rescue されることが分かった。また、加齢、高炭水化物食による高 TG 血症も、SREBP-1c 欠損によりほぼ完全に rescue されることが分かった。
  - そこで次に、SREBP-1c の欠損がどのようにして、高 TG 血症を rescue できるのかを探索した。血中脂質・リポ蛋白分析から、これらの環境要因（加齢、高炭水化物食、LXR アゴニスト）により大型 VLDL の産生が増えること、LPL の補因子である apoA-V の欠損マウスでは、大型 VLDL の代謝が遅延することにより、大型 VLDL が血中に異常蓄積することが分かった。さらに、SREBP-1c 欠損では、これらの環境要因による大型 VLDL 産生が起きないこと、それにより重度高 TG 血症が rescue されることが分かった。すなわち、これらの環境要因は、SREBP-1c を活性化し、SREBP-1c は大型 VLDL を産生、大型 VLDL の代謝に必要な apoA-V が欠損している場合には、大型 VLDL が蓄積することが明らかとなった（図 2、文献 1）。
  - 一方、カイロミクロン (CM) の増加をきたす環境刺激（脂肪負荷）により、apoA-V 欠損では CM 蓄積による重度高 TG 血症をきたすが、CM 蓄積については、SREBP-1c 欠損では rescue されなかった。

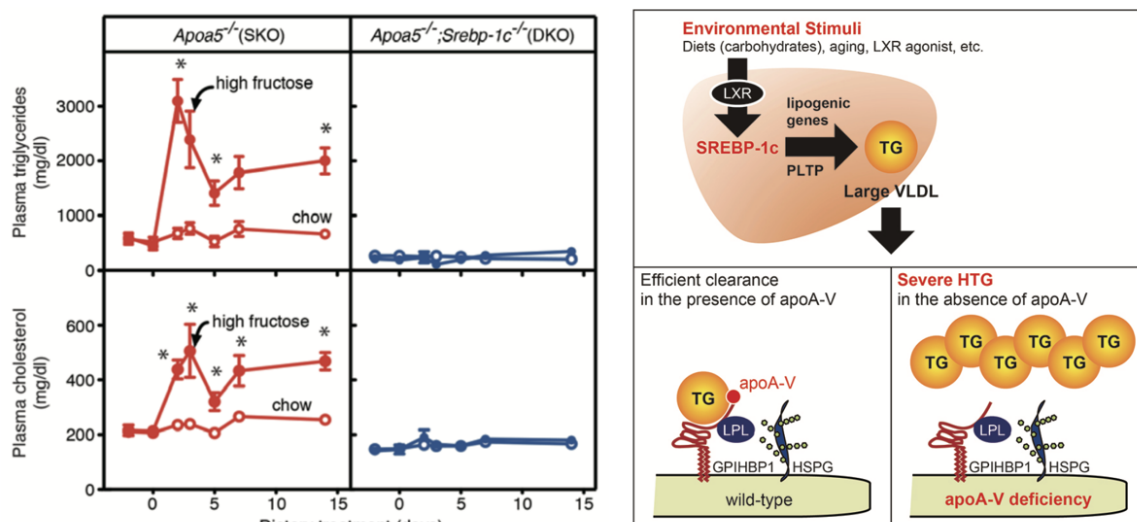


図 2. 左図：apoA5 マウス (*ApoA5*<sup>-/-</sup>) を用いて、ヒトと同様の環境要因による重度高 TG 血症のマウスモデルを確立した。さらに、その分子機序を *in vivo* で解明、特に、脂質合成を制御する転写因子 SREBP-1c の重要性を apoA5 と SREBP-1c の両欠損マウス (*ApoA5*<sup>-/-</sup>; *Srebp-1c*<sup>-/-</sup>)、を用いて解明した。右図：環境要因は、肝臓 SREBP-1c の活性化を介して大型 VLDL 産生を惹起する。大型 VLDL の代謝に必要なアポリポ蛋白 apoA-V (apoA5) が欠損していると、重度高 TG 血症を来す。SREBP-1c 経路は高 TG 血症の新たな創薬標的になりうる (Takanashi M, Kimura T, .., Okazaki H. *ATVB*, 2019)。

以上の結果から、環境要因（加齢、高炭水化物食）は、SREBP-1c の活性化とそれによる大型 VLDL 産生を介して、大型 VLDL 代謝が遅延する遺伝的要因を有する場合には、著しい高 TG 血症をきたすことが明らかとなった。

本研究課題により、動脈硬化惹起性高 TG 血症のマウスモデルを確立、新たな分子機序の *in vivo* 解明により、今後の創薬に道を開く研究成果が得られた。今後さらに研究を進めることにより、1) SREBP-1c のどのような下流遺伝子が、どのようなメカニズムで VLDL 大型化を惹起するのか、2) apoA-V はどのようなメカニズムで、特に大型 VLDL の代謝を促進するのか、3) TGRL 蓄積はどのように動脈硬化を惹起するのか、4) 臨床的に重要なその他の環境要因（飲酒、糖尿病、妊娠など）による高 TG 血症では、SREBP-1c-大型 VLDL 産生はどのような役割を果たすか、を解明することにより、動脈硬化惹起性高 TG 血症の新規治療法開発につなげたい。

#### <引用文献>

- Takanashi M, Kimura T, Li C, Tanaka M, Matsushashi A, Yoshida H, Noda A, Xu P, Takase S, Okazaki S, Iizuka Y, Kumagai H, Ikeda Y, Gotoda T, Takahashi M, Yagyu H, Ishibashi S, Yamauchi T, Kadowaki T, Liang G, Okazaki H. Critical Role of SREBP-1c Large-VLDL Pathway in Environment-Induced Hypertriglyceridemia of Apo AV Deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 39:373-386, 2019.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 岡崎啓明	4. 巻 35
2. 論文標題 コレステロールとトリグリセリド 遺伝子からの新知見	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Diet Therapy	6. 最初と最後の頁 17-24
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡崎啓明	4. 巻 135
2. 論文標題 急性膵炎とトリグリセライド	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床栄養	6. 最初と最後の頁 61-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡崎啓明	4. 巻 148
2. 論文標題 高TG血症・レムナント	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 S89-S93
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡崎啓明	4. 巻 67
2. 論文標題 アポリポ蛋白C-IIとアポリポ蛋白A-V	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床病理	6. 最初と最後の頁 1138-1148
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takanashi M, Kimura T, Li C, Tanaka M, Matsuhashi A, Yoshida H, Noda A, Xu P, Takase S, Okazaki S, Iizuka Y, Kumagai H, Ikeda Y, Gotoda T, Takahashi M, Yagyu H, Ishibashi S, Yamauchi T, Kadowaki T, Liang G, Okazaki H	4. 巻 39
2. 論文標題 Critical Role of SREBP-1c Large-VLDL Pathway in Environment-Induced Hypertriglyceridemia of Apo AV Deficiency	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 373 ~ 386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.118.311931	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 岡崎啓明	4. 巻 71
2. 論文標題 高トリグリセリド血症 動脈硬化ハイリスク遺伝子と新たな制御手段への期待	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 東京都医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 293-298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡崎 啓明	4. 巻 36
2. 論文標題 高中性脂肪血症 成因、診断、治療	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 55-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡崎 啓明	4. 巻 268
2. 論文標題 高中性脂肪血症の遺伝子-環境連関 apoA-V欠損症からの新知見	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 403-408
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡崎 啓明	4. 巻 30
2. 論文標題 原発性高カイルミクロン血症の過去・現在・未来	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Lipid	6. 最初と最後の頁 58-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 岡崎啓明
2. 発表標題 高TG血症に遭遇した時、何をすべきか? 原発性高カイルミクロン血症など
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中督記、高梨幹生、木村武史、李驍驍、石せいせん、野田明里、高瀬暁、岡崎佐智子、飯塚陽子、門脇孝、山内敏正、岡崎啓明
2. 発表標題 妊娠時高中性脂肪血症の分子機構のin vivo探索
3. 学会等名 第51回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎啓明
2. 発表標題 環境と遺伝子~高TG血症はなぜ増悪するのか?
3. 学会等名 第62回日本脂質生化学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年~2020年

1. 発表者名 Hiroaki Okazaki
2. 発表標題 Critical Role of SREBP-1c Large-VLDL Pathway in Environment-induced Hypertriglyceridemia of apoA-V Deficiency
3. 学会等名 Vascular Discovery: from Genes to Medicine Scientific Sessions 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 田中督記、高梨幹生、李驍驍、木村武史、石せいせん、高瀬暁、岡崎佐智子、飯塚陽子、門脇孝、山内敏正、岡崎啓明
2. 発表標題 apoA-V欠損マウスを用いたインスリン欠乏時の重度高中性脂肪血症のメカニズム解明
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 岡崎啓明
2. 発表標題 原発性高カイルロミクロン血症の治療標的
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 岡崎啓明
2. 発表標題 中性脂肪と動脈硬化-分子遺伝学から考える-
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 岡崎 啓明, 高梨 幹生, 木村 武史, 李 騁騁, 田中 督記, 徐 鵬飛, 高瀬 暁, 岡崎 佐智子, 飯塚 陽子, 門脇 孝, Liang Guosheng
2. 発表標題 難治性高トリグリセリド血症の発症機序 SREBP-1c-大型VLDL経路の重要な役割
3. 学会等名 第55回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 岡崎 啓明
2. 発表標題 脂質異常症治療の課題 TG
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 岡崎 啓明
2. 発表標題 高中性脂肪血症の遺伝子-環境連関 apoA5欠損症からの新知見
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 岡崎 啓明
2. 発表標題 脂質コントロール 診断と治療の未解決課題に挑む
3. 学会等名 第50回日本動脈硬化学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年



1. 発表者名 岡崎 啓明
2. 発表標題 コレステロールとトリグリセリド 遺伝子からの新知見
3. 学会等名 第40回日本臨床栄養学会総会・第39回日本臨床栄養協会総会・第16回大連合大会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 岡崎 啓明
2. 発表標題 高カイロミクロン血症の病因と病態
3. 学会等名 第32回日本小児脂質研究会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学医学部 糖尿病・代謝内科 第2・11研究室ホームページ  <a href="http://plaza.umin.ac.jp/~lipid/">http://plaza.umin.ac.jp/~lipid/</a></p> <p>厚生労働省難治性疾患克服政策事業「原発性高脂血症に関する調査研究班」ホームページに掲載の下記総説執筆  「原発性高カイロミクロン血症」（後藤田貴也、岡崎啓明）  <a href="https://nanbyo-lipid.com/wp/wp-content/themes/nanbyo_lipid/pdf/disease05_02.pdf">https://nanbyo-lipid.com/wp/wp-content/themes/nanbyo_lipid/pdf/disease05_02.pdf</a>  「無 リポタンパク血症」（岡崎啓明、高橋学）  <a href="https://nanbyo-lipid.com/wp/wp-content/themes/nanbyo_lipid/pdf/disease07_02.pdf">https://nanbyo-lipid.com/wp/wp-content/themes/nanbyo_lipid/pdf/disease07_02.pdf</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	高梨 幹生  (Takanashi Mikio)  (70610799)	東京大学・医学部附属病院・助教    (12601)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	高瀬 暁 (Takase Satoru)  (80508094)	東京大学・医学部附属病院・助教   (12601)	
連携研究者	岡崎 佐智子 (Okazaki Sachiko)  (30648720)	東京大学・保健・健康推進本部・助教   (12601)	