

機関番号 : 23903
研究種目 : 若手研究 (B)
研究期間 : 2009~2010
課題番号 : 21790739
研究課題名 (和文) ABCA1 を標的とした HDL 増加薬の開発
研究課題名 (英文) Development of HDL-raising drugs targeting ABCA1
研究代表者
岩本 紀之 (IWAMOTO NORIYUKI)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号 : 70534709

研究成果の概要 (和文) : HDL産生律速膜蛋白質ABCA1には (1)転写制御因子AP2による遺伝子の負の発現制御と(2)蛋白質のカルパイン分解による活性制御が認識されている。本研究では (1) ABCA1転写制御がPKDによるAP2{alpha}のリン酸化により行われ、PKDによるAP2{beta}のリン酸化によるアディポネクチン遺伝子転写制御と共通であること、(2)カルモジュリン結合がABCA1のカルパイン分解を抑制しW7がカルモジュリンのABCA1への結合増加によりHDL産生を増加させることを見い出した。

研究成果の概要 (英文) : ABCA1 expression is regulated negatively by a transcriptional factor AP2 and its protein level is modulated by calpain-mediated proteolytic degradation. In this research project, I demonstrated that regulation of the ABCA1 gene by AP2 is mediated by its phosphorylation by PKD, which is similar to negative regulation of the adiponectin gene. I also showed that calmodulin binds ABCA1 and suppress its calpain-mediated degradation. A calmodulin inhibitor W7 enhanced calmodulin binding to ABCA1 to increase HDL biogenesis.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：(1) ABCA1、(2) コレステロール、(3) HDL、(4) PKC、(5) AP2、(6) カルモジュリン、(7) カルパイン、(8) アポリポプロテイン

1. 研究開始当初の背景

血漿 HDL 濃度は虚血性心疾患の強い負の危険因子であり、その増加を図ることでこれらの疾患を予防・治療できることが強く期待されているが、これを達成出来る薬剤はまだ開発されていない。HDL の産生は、細胞表面の膜蛋白質 ABCA1 が律速因子であり、この活性増加が HDL を増加させる最良の方法と考えられている。ABCA1 は細胞外のヘリックス型アポリポ蛋白質と反応して膜脂質とアポリポ蛋白質からなる複合粒子として HDL を産生する。ABCA1 の機能欠損は血漿 HDL の欠損に帰結することから、ABCA1 は HDL 産生に必須の因子であると考えられる。ABCA1 遺伝子の発現は主として転写制御因子 LXR が通常細胞内コレステロールの上昇を感知して増加することにより制御される。ABCA1 の活性制御は、その遺伝子の発現促進と特異的分解酵素の阻害による方法が試みられているが、未だ成功していない。従って、ABCA1 の活性制御機構の解明は、HDL 産生増加の技術の標的反応を明らかにし、薬剤等の開発による HDL 産生増加を可能にし、動脈硬化のより効果的な予防治療技術の開発に繋がるものと期待される。

2. 研究の目的

(1) 我々は、ABCA1 遺伝子発現の負の転写制御因子である AP2 の DNA への結合が PKD による特異的残基のリン酸化により制御されていることを見出した。従って、PKD 活性の抑

制が ABCA1 の活性促進になると言う仮説の検証を行なうこととした。また、他より報告のあったアディポネクチン遺伝子の発現が AP2 {beta} により負の制御をうけることについても、PKD の関与を調べることとした。これにより PKD が両遺伝子の制御の共通の上流である可能性を検証することとした。

(2) Calmodulin 阻害剤 W7 が ABCA1 による HDL 新生反応を促進する、という過去の我々の知見の機序を検証し、Calmodulin と W7 が ABCA1 の代謝や発現制御、活性調節にどう関わっているのかを検証することとした。

3. 研究の方法

PKD による AP2 {alpha} {beta} のリン酸化とその部位の特定を確認し、この反応と AP2 の ABCA1 と adiponectin の DNA への結合の関連を調べ、PKD がこれらの遺伝子の発現制御における共通の情報伝達系であるかどうかを検討した。またカルシウム依存的な活性制因子カルモジュリンが ABCA1 のカルパインによる分解の制御に関わっているかどうかを検討した。

4. 研究成果

AP2 の ABCA1 への抑制的転写制御が PKD による AP2 {alpha} の Ser258 の特異的リン酸化により行われ、この機序が AP2 {beta} の Ser277 の PKD によるリン酸化がアディポネクチン遺伝子発現の抑制的制御を行う機構と共通で

あることを見いだした。これは、PKD 阻害剤がアディポネクチンと HDL の上昇をもたらすことを意味し、実際それが PKD の阻害剤 Go6983 を投与した動物実験でも確かめられた。また、カルモジュリンがカルシウム依存的に ABCA1 と結合してそのカルパインによる分解を抑制することが分かった。これと関連して、研究グループが以前から見いだしていたカルモジュリン阻害剤 W7 が ABCA1 による HDL 産生を高める反応について調べ、阻害剤であるはずの W7 がカルモジュリンの ABCA1 への結合を増加させ、この結果 ABCA1 の分解を抑制し HDL の産生を高めることが明らかになった。このように、PKD の特異的阻害はメタボリック症候群の典型的症状である低 HDL 血症と低アディポネクチン血症を改善し、動脈硬化のリスクを低下させる良い治療標的であり、また HDL 増加のためのカルモジュリン活性制御物質を W7 をシーズとして探索することが可能となった。

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 3 件)

① Noriyuki Iwamoto, Rui Lu, Nobukiyo Tanaka, Sumiko Abe-dohmae, Shinji Yokoyama Calmodulin Interacts with ATP Binding Cassette Transporter A1 to Protect from Calpain-Mediated Degradation and Upregulates High Density Lipoprotein Generation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 30:1446-1452, 2010

(査読あり)

② Nobukiyo Tanaka, Sumiko Abe- Dohmae, Noriyuki Iwamoto, Michael L. Fitzgerald,

and Shinji Yokoyama. Helical Apolipoproteins of High-Density Lipoprotein Enhance Phagocytosis by Stabilizing ATP-Binding Cassette Transporter A7. *J. Lipid Res.* 51: 2591-2599, 2010

(査読あり)

③ Noriyuki Iwamoto and Shinji Yokoyama. Protein kinase D regulates the adiponectin gene expression through phosphorylation of AP-2; a common pathway to the ABCA1 gene regulation. *Atheroscler.* 216: 90-96, 2011.

(査読あり)

[学会発表] (計 4 件)

① 岩本 紀之

FH における妊娠と LDL アフェレシス
日本アフェレシス学会
2010 年 11 月 4 日
東京

② 岩本 紀之

Regulation of ATP-Binding Cassette (ABC) tyansporter in Sterol Metabokism
日本動脈硬化学会
2010 年 7 月 15 日
岐阜

③ 岩本 紀之

転写調節因子 AP2 α による細胞内脂質排出に関わる遺伝子調節機構
日本脂質生化学会
2009 年 7 月 30 日
名古屋

④ 岩本 紀之

Calmodulin interacts with ABCA1
and regulate its expression level.

日本動脈硬化学会

2009年7月17日

山口

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩本 紀之 (IWAMOTO NORIYUKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号 : 70534709