九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

# 外因性高コレステロール血症ラットの遺伝的背景及び食品機能性評価モデル動物としての利用に関する研究

田中，愛健

https://hdl.handle.net/2324/1441321

出版情報：九州大学，2013，博士（農学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名　：田中愛健

論文題目　：外因性高コレステロール血症ラットの遺伝的背景及び
　　食品機能性評価モデル動物としての利用に関する研究

区　　分　：甲

# 論　文　内　容　の　要　旨

血中コレステロール濃度の増加は動脈硬化症に対する重要なリスクファクターであり、高コレステロール血症の発症メカニズムおよび予防・治療に関する研究が数多く行われてきた。Katan らの報告によると、食事による等量のコレステロール負荷に対しても大きな応答（血清コレステロール濃度の増加）がある食事コレステロール高応答者が存在する。外因性高コレステロール血症（ExHC）ラットは食事コレステロール高応答者に対するモデルラットであり、食餌コレステロール摂取により速やかに高コレステロール血症を発症し、また、その症状は雌ラットのほうが重篤である。これまでに、この ExHC ラットにおける雌雄共通の食餌性高コレステロール血症の発症メカニズムとして、「肝臓において脂肪酸合成酵素の活性が低下し、トリアシルグリセロール（TAG）量が減少することによって、コレステロールエステルに富み、血中からの消失の遅いβ-VLDL を分泌する」ということが示された。この ExHC ラットにおける高コレステロール血症の発症は、これまでの内因のコレステロールを原因とする他のモデル動物において確立されてきた発症メカニズムとは異なり、新規なものである。しかし、この遺伝的背景およびコレステロール代謝以外については研究が進んでいない。そこで、この ExHC ラットの食餌性高コレステロール血症の発症について、また、雌特異的な原因遺伝子座である Dihc1 領域について解析を行った。さらに、ExHC ラットは、本来食事には含まれていないが、高コレステロール血症を誘導する物質であるコール酸の添加なしで食餌誘導性高コレステロール血症を発症することから、血中コレステロール濃度低下作用評価モデル動物として優れていると考え、検討を行った。

β-VLDL 分泌の原因である肝臓での TAG および脂肪酸代謝について、遺伝子の発現を中心に解析を行った（第 2 章）。その結果、リポタンパク質の分泌および取込に関与する遺伝子に ExHC ラットでは起源系統である SD 系ラットと比べて差がなく、複数の *de novo* 脂肪酸合成系遺伝子の発現が低下していることを明らかとした。このとき、TAG 合成系の遺伝子についてはその発現量に有意な差がなかったことから、これまでに高コレステロール血症の発症に重要であると考えられてきた肝臓 TAG 量の減少は *de novo* 脂肪酸合成の減少によるものが大きいことを遺伝子発現においても明らかにした。また、ExHC ラットにおける高コレステロール血症原因遺伝子である *Smek2* が糖新生を制御するという報告がなされたことから、ExHC ラットにおける糖代謝について評価を行った（第 3 章）。雄性 ExHC ラットは SD ラットと比較して有意に高い血清インスリン濃度を示し、インスリン抵抗性指標である HOMA-IR は高スクロース摂食 ExHC ラットにおいて有意に高くなった。また、経口糖負荷試験を行った結果、血糖値においては ExHC ラットは SD 系ラットと同等の濃度-時間曲線下面積（AUC）を示したが、インスリン濃度 AUC において増加傾向を示した。したがって、ExHC ラットは等量の血中グルコースのクリアランスに、より多くのインスリンが必要であること、つまりインスリン抵抗性を呈していることが明らかとなった。

さらに、コレステロール代謝では、食事誘導性高コレステロール血症においては再現性良く誘導が可能であり、その時の血清コレステロール濃度は摂取コレステロール量に比例することから、血

清コレステロール濃度低下作用を有する可能性のある食品成分・薬剤に対する評価モデルラットとして優れていると考えた。そこで、ExHC ラットを用いて、1%コレステロールおよび 0.5%コール酸を負荷した SD 系ラットで確認されていた米胚乳タンパク質 21kDa-グロブリンおよびコレステロール吸収阻害剤であるエゼチミブの血清コレステロール濃度低下作用の評価を行った。その結果、ExHC ラットではコール酸添加なしで、また、コレステロール量も少ない条件下（0.5%負荷）においても血清コレステロール濃度低下作用を評価できたことから、ExHC ラットはコレステロール吸収阻害剤の非常に優れた評価モデルラットであることを示した。

最後に、未だ責任遺伝子が不明である、6 週齢の ExHC ラットにおける血清コレステロール濃度を規定する雌特異的原因領域 Dihc1 領域の限局化を行い、ExHC ラット全ゲノムのリシーケンスから得た変異情報およびマイクロアレイで解析した全遺伝子網羅的な発現量情報に基づいて、候補遺伝子の解析を行った。この結果、Dihc1 領域を約 6.2Mbp に限局し、領域内の候補遺伝子を 73 まで限定し、このうち 19 遺伝子の発現量が ExHC ラットにおいて有意に変動していることを明らかにした。また、6 週齢および 10 週齢において、血清総コレステロール濃度を規定する領域が異なることも発見した。この結果から、加齢による血清コレステロール濃度に対する責任遺伝子座として、限局した Dihc1 領域とは別に、約 7.4Mbp の Dihc3 領域を第 5 染色体上に新たに見出した。

本研究では、ExHC ラットにおける食事性高コレステロール血症の発症において重要な因子である肝臓トリアシルグリセロール量の減少は、*de novo* 脂肪酸合成系の遺伝子の発現が低下しているためであることを明らかとし、また、その病態には脂肪酸代謝のみではなく、糖代謝、特にインスリン感受性が関連している可能性を示した。さらに、ExHC ラットは脂肪酸代謝・糖代謝に異常を抱えているため、これらの表現型に対する機能性評価モデル動物としての利用は難しいが、食事誘導性高コレステロール血症の血清コレステロール濃度低下作用に対する評価モデル動物としては非常に優れたラットであることを示した。