

シンポジウム S2 B会場 (732 教室) 13:10~15:10

S2 生活習慣病の分子病態と予防・治療への展望

座長：石井 功 (昭和薬大)、樋口 敏幸 (日本薬大)

S2-1 MASH 治療薬としての PPAR アゴニストの展望：構造機能解析から

石井 功 (昭和薬科大学)

S2-2 大腸がんにおけるフェロトーシス

原 俊太郎 (昭和医科大学薬学部)

S2-3 時計遺伝子 BMAL1 による脂肪細胞機能制御

榛葉 繁紀 (日本大学薬学部)

S2-4 動脈硬化発症要因である生体内酸化 LDL の実態

板部 洋之 (昭和医科大学薬学部)

MASH 治療薬としての PPAR アゴニストの展望：構造機能解析から

石井 功

昭和薬科大学・衛生化学

脂肪肝に肥満、2型糖尿病、あるいは2種類以上の代謝異常のいずれかが併存する状態を指す代謝機能障害関連脂肪性肝疾患(MASLD)は、従来の非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)に代わる新しい疾患概念であり、肥満人口の拡大に伴い世界人口の約25%の患者数が想定されている。その12~40%の患者の脂肪肝で炎症が起き線維化が進行すると代謝機能障害関連脂肪肝炎(MASH)となり、さらにその15~25%が不治の肝硬変や肝がんになるため、MASH発症早期までに治療を開始する必要がある。しかし、糖尿病に様々な作用機序の治療薬があるのに対し、MASH治療薬は2024年3月FDAに迅速承認されたTHR- β 作動薬 Resmetirom のみである。製薬各社が創薬にしのぎを削る中、代謝全般を統括制御し脂肪毒性が生じる初期段階での改善を促す転写因子型核内受容体 Peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)の作動薬が期待されている。PPARには3つの相同サブタイプ $\alpha/\delta/\gamma$ があり、今まで α アゴニストの Fibrate 系薬が脂質異常症薬、 γ アゴニストの Pioglitazone が糖尿病薬として使用されてきたが、脂質代謝と糖代謝を共に改善するとして MASH 治療に期待されているのは、その2つあるいは3つに作用する dual/pan アゴニストである。よって、各候補薬が $\alpha/\delta/\gamma$ それぞれにどのように作用するかが特に重要だが、2020年時点で PPAR γ とリガンドの X 線結晶構造 PDB 登録数が 224 あったのに対し、 α と δ は各々21と44に過ぎなかった。つまり、 α と δ に対する結合様式の情報不足していた。そこで我々は、画期的な結晶作成法を用いて PPAR α -リガンド共結晶構造取得を試み登録数を倍増させると共に、PPAR δ/γ 構造も新規に取得し、ヒトで48種ある核内受容体ファミリーの中で特に大きいリガンドポケットの様々な領域にリガンドが結合することを報告した。また、各リガンドの $\alpha/\delta/\gamma$ それぞれの活性化能を評価する3つの生化学手法を駆使して、Fibrate 系承認薬、そして MASLD 治療薬として期待されている(いた)Lanifibranor、Seladelpar、Saroglitazar、Elafibranor 等の PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 結合様式と活性化様式を明らかにした。さらには、Coactivator リクルート能を測定する TR-FRET 法を改良した Dual-FRET 法を用いて、各候補薬が同一 PPAR サブタイプを介して異なる活性化様式を示すこと、そしてそれは必ずしも内在性リガンドとされる遊離脂肪酸による生理的な活性化様式と同一ではないことを見出した。多くの dual/pan アゴニストが副作用や無作用で開発中止となっている現状を考慮すると、既存の承認済み $\alpha/\delta/\gamma$ 選択的アゴニストの併用による治療戦略も有効かも知れない。

大腸がんにおけるフェロトーシス

原 俊太郎

昭和医科大学薬学部

フェロトーシスは近年見いだされた鉄依存的な脂質過酸化反応を特徴とする制御された細胞死であり、様々な疾患への関与が注目されている。心筋梗塞、脳卒中などの虚血性疾患、脂肪性肝炎や慢性閉塞性肺疾患など、非常に多様な生活習慣病の病態にも、フェロトーシスが関わることで報告され、これらの疾患の予防・治療への応用が期待されている。私たちは、フェロトーシスの制御因子の1つである長鎖アシル CoA 合成酵素 4 (ACSL4) の遺伝子欠損 (KO) マウスを用い、我が国で問題となっている生活習慣病、大腸がんの発症・進展におけるフェロトーシスの役割について検討を進めている。

ACSL4 はアラキドン酸等の高度不飽和脂肪酸 (HUFA) を良い基質として CoA を付加しアシル CoA に変換することで、HUFA のグリセロリン脂質への再取り込みを制御し、HUFA 含有グリセロリン脂質を維持する酵素である。HUFA 含有グリセロリン脂質は脂質過酸化反応を受けやすいため、ACSL4 の発現が誘導されるとフェロトーシスが生じやすくなり、一方 ACSL4 を欠損させるとフェロトーシスは生じにくくなる。マウスにアゾキシメタン (AOM) を腹腔投与したのちに、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を自由飲水させると、腸炎誘導性の大腸がんを発症するが、野生型マウスでは腫瘍の進展に伴い、腫瘍部位で ACSL4 の発現が誘導されるとともに、過酸化脂質の蓄積が観察された。一方、ACSL4 欠損マウスでは、過酸化脂質の蓄積が抑えられ、大腸がんの進展も抑制されることが明らかとなった。DSS のみを自由飲水させたときに生じる大腸炎も同様に、ACSL4 欠損マウスでは抑制された。以上の結果より、ACSL4 は腸炎誘導大腸がんにおいて、脂質過酸化反応を介してフェロトーシスを誘導し、炎症反応を亢進することにより、大腸がん病態の形成を促進することが示唆された。

フェロトーシスはもともと抗がん剤の作用機構の解析から発見されたことから、がん細胞にフェロトーシスを誘導しがんを除去するという、がん治療の新たな戦略としてフェロトーシスを利用するというアプローチもとられている。しかし、本研究から示されたように、がんの種類、段階によっては、逆にフェロトーシスを抑えることも重要である。がんをはじめとする生活習慣病におけるフェロトーシスについては、今後更なる検討が必要である。

時計遺伝子 **BMAL1** による脂肪細胞機能制御

榛葉 繁紀

日本大薬

食事などに由来する余剰なエネルギーは、脂肪細胞において主にトリアシルグリセロール(TG)として貯蔵される。貯蔵されたTGは個体のエネルギー状態に応じて分解され、遊離脂肪酸として血中に放出された後に全身の各組織でエネルギーとして利用される(脂肪動員)。この脂肪動員は休息期に活性化し、活動期には低下する概日リズムを示す。しかし、そのメカニズムは十分に明らかではない。生理反応の概日リズムは、体内時計により調節される。本研究では、体内時計の主要構成因子である時計遺伝子 *Bmal1* を脂肪細胞特異的に欠損した (ABKO) マウスを用いて、脂肪細胞の機能制御における **BMAL1** の役割の解明を目指した。

ABKO マウスでは呼吸商の概日リズムが消失し、休息期の値が活動期と同程度まで増加した。さらに休息期には、ABKO マウスにおいて血清遊離脂肪酸量の減少ならびに脂肪細胞の肥大が認められた。ABKO マウスの脂肪組織ではインスリン感受性の亢進と、それに続くリン酸化 **Hormone Sensitive Lipase** (活性化体) の減少を認めた。遺伝子発現解析を行った結果、脂肪組織のインスリン感受性の亢進に関わる因子として *Fgf21* を見出した。そこで、脂肪細胞特異的 *Bmal1/Fgf21* 二重欠損 (AdKO) マウスを作製したところ、ABKO マウスで認められた上記の表現型は消失した。さらに *Bmal1* 欠損による *Fgf21* の発現誘導が転写抑制因子 **REV-ERB α** を介した間接的なものであることを **RNAi** 法並びにクロマチン免疫沈降-qPCR 法を用いて明らかにした。

本研究は、(i) 脂肪細胞において **BMAL1** は **REV-ERB α** を介して *Fgf21* 量を抑制することで脂肪組織のインスリン感受性を低下させること、そしてこれにより(ii) **BMAL1** の活性が高い休息期には脂肪分解が活性化し、休息期のエネルギー源である遊離脂肪酸が血中へと放出されることを明らかにした。すなわち本研究は、生体が、自身で利用するエネルギー源をその時の活動・休息(覚醒・睡眠)のサイクルに合わせて切り替える分子メカニズムを解明したものであり、生理学的に非常に重要な意義を持つ。また同時に本研究で示した **BMAL1** の機能低下と肥満との関係は、睡眠不足や夜遅い食事などにより生じる概日リズムの異常が肥満を引き起こすメカニズムの一部であると考えられ、「規則正しい生活の励行」に科学的エビデンスを与えるものとして国民の健康推進に寄与するものである。

動脈硬化発症要因である生体内酸化 LDL の実態

板部 洋之

昭和医大・院・薬・生物化学

リポタンパク質代謝が心血管疾患の発症に関わることは広く知られている。特に低比重リポタンパク質（LDL）が酸化修飾を受けた酸化 LDL は、動脈硬化の発症要因であることが多くの研究により示されている。

粥状動脈硬化症の病変部に浸潤したマクロファージは、スカベンジャー受容体により酸化 LDL を取り込んで、脂質を蓄積した泡沫細胞となる。1990年代には酸化 LDL の存在が免疫学的に示されたものの、生体内に存在する酸化 LDL がどのような変性体なのか、病巣形成以前にも存在するのかなど、その実態はよく分かっていなかった。当研究室では、酸化ホスファチジルコリン（酸化 PC）に対するモノクローナル抗体を用いてヒト血漿酸化 LDL を検出し、生体内酸化 LDL の動態と性状について検討してきた。

動脈硬化モデル動物である apoE ノックアウトマウスは、普通食でも血漿コレステロール値が著しく上昇し、生後 20 週頃から動脈硬化病巣が形成され始める。生後 40 週まで飼育し、その間経時的に血中酸化 LDL 値と大動脈の病巣形成を調べた。血中酸化 LDL は、動脈硬化巣の形成に先立つ 10 週から増加し、20 週でピークを形成した。その後、血中酸化 LDL 値は減少するとともに動脈硬化巣形成が拡大した。これらの結果から、酸化 LDL は血流中と血管組織の間を移行でき、病巣形成の要因となることが示された。

酸化 LDL は、LDL 中の脂質の酸化反応と、酸化生成物による apoB タンパク質の修飾が並行して進むため、不均一な産物が混合した状態となる。非酵素的な反応であるため遺伝学的アプローチは困難と考えられた。そこで、ヒト血漿から超遠心分離した LDL 画分を陰イオン交換クロマトグラフィーで分画した。ほとんどの LDL は素通り画分に回収されたが、0.5M NaCl で溶出される画分に酸化 LDL の抗原性を強く示す成分が存在した。この画分には、酸化 LDL に加えて酸化修飾された HDL が含まれており、酸化 LDL-酸化 HDL 複合体が形成されていることが示された。

HDL は善玉コレステロールをも呼ばれてきた。HDL には、コレステロールの逆転送の機能に加えて抗酸化作用があり、自身が酸化され LDL の酸化を抑制する。生体内では、この抗酸化作用により酸化型になった HDL がこのような酸化 LDL との複合体を形成しているものと推察される。生体内での酸化 LDL 形成においては、これらの共存するリポタンパク質間の相互作用を無視できないことが分かった。

【文献】 Sawada N, *et al. J. Lipid Res.* (2020) 61:816-829