

## SHRSP/Izm における脳卒中発症メカニズムの解明に向けて

福山大学薬学部 病態生理・ゲノム機能学研究室 道原明宏

脳卒中は脳の血管に障害が起こる病気であり、急激な意識障害や神経症状を呈する疾患である。我が国における脳卒中の死亡率は、医療技術の進歩や食生活の欧米化に伴って低下してきた。しかし、現在も国内の死亡原因では、悪性新生物、心疾患、老衰に次いで第4位と上位を占めている。脳卒中の原因として第一義的に重要な疾病は高血圧である。

現在、疫学的調査の結果から、コレステロール (Chol) 不足が原因で脳卒中 (中でも脳内出血) を引き起こすことが明らかにされてきた。Cholは細胞膜の主要構成成分の1つである。血管内皮細胞中のChol含量の低下は、膜の脆弱を引き起こし形質膜の流動性の増加、細胞増殖の減少を引き起こす。ゆえに、血清と脳内のChol低下は、それぞれ外側と内側から血液脳関門構成細胞に悪影響を及ぼし、虚血性脳卒中の発症に関与することが考えられる。また、血中Chol低下は、脳内出血だけでなく総死亡率、うつ病、自殺、骨粗鬆症に関与していることも報告されている。つまり、血中Chol低下機構を明らかにすることは、各種疾患の予防において重要であると言える。

重篤な高血圧を有し100%脳卒中を自然発症する脳卒中易発症ラット (SHRSP/Izm: SHRSP) の病理学的所見はヒトと酷似していることから、ヒト脳卒中の研究に広く用いられている。SHRSPの血中Cholは、対照ラット (WKY/Izm: WKY) に比べ有意に低下していることが報告されている。Cholの腸からの吸収 (SHRSP>WKY)、血中からの排泄 (SHRSP<WKY)、肝臓におけるChol合成能 (SHRSP<WKY)、胆汁酸合成の律速酵素である7 $\alpha$ ヒドロキシラーゼの活性 (SHRSP=WKY) について比較検討した結果、SHRSPの血中Chol低下は肝臓におけるChol合成能の低下に強く起因していることが明らかにされた。Chol合成経路の律速酵素であるHMG-CoA還元酵素の活性は同程度 (SHRSP=WKY) であった (図1)<sup>1)</sup>。しかし、この酵素より3つ下流のメバロン酸二リン酸脱炭酸酵素 (MPD) の活性はSHRSPにおいて有意な減少を示した<sup>1)</sup>。我々はさらに研究を進め、WKYとSHRSPの肝臓から各MPDタンパク質を精製し、その性質を詳細に調査した結果、共に同程度の性質 (Km値、Vmax値、等電点等) を有していることが示された<sup>2,3)</sup>。肝臓中のMPDタンパク質量はSHRSPにおいて有意な減少を示した<sup>3)</sup>。しかし、MPDの比活性 (精製タンパク質量当たりの活性) は共に同程度の値を示した (SHRSP=WKY)<sup>3)</sup>。つまり、SHRSPの肝臓におけるMPD活性の低下はタンパク質量の低下により引き起こされていることが明らかとなった。このMPDタンパク質量の減少はSHRSPの脳と肝臓でのみ生じており、2週齢から引き起こされていた (図1、表1)<sup>4,5)</sup>。また、SHRSPの肝臓におけるMPD mRNAとhnRNAレベルは有意に減少していたことから、転写レベルの段階で減少を生じている可能性が考えられた (図1)<sup>6)</sup>。さらに、SHRSPの肝臓におけるmiRNA-214の増加により、部分的にMPD mRNAの分解と翻訳の抑制が生じていることも示唆

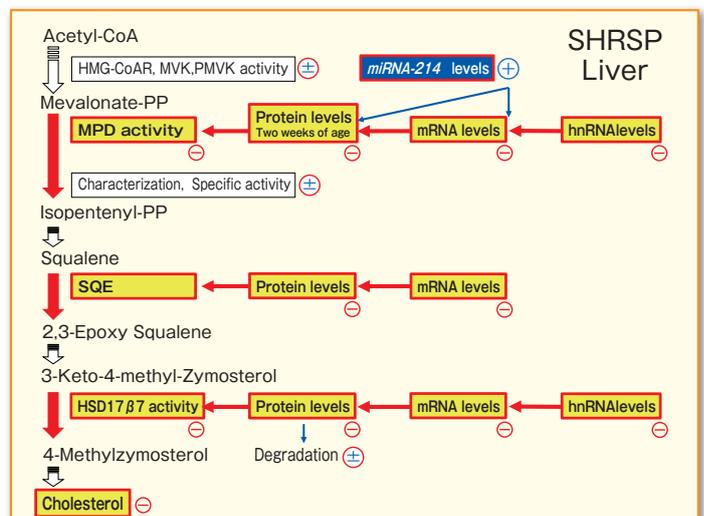


図1. SHRSPの肝コレステロール合成低下に関与する酵素群の発現調節機構  
HMG-CoAR: HMG-CoA還元酵素、MVK: メバロン酸キナーゼ、PMVK: ホスホメバロン酸キナーゼ、MPD: メバロン酸二リン酸脱炭酸酵素、SQE: スクアレンエポキシダーゼ、HSD17 $\beta$ 7: 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ7、(+): WKYに比べSHRSPにおいて有意に増加、(-): WKYに比べSHRSPにおいて有意に減少、(±): 有意差なし

Tissues	Brain	Heart	Lung	Liver	Spleen	Pancreas	Stomach	Small intestine	Large intestine	Kidney	Testis
MPD	(-)	(±)	(±)	(-)	(±)	N.I.	(±)	(±)	(±)	(±)	(±)
SQE	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	N.I.	N.I.	N.I.	(-)	(-)
Hsd17 $\beta$ 7	(±)	(±)	(±)	(-)	(±)	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	(±)	(±)

表1. SHRSPの肝コレステロール合成低下に関与する酵素群の組織分布  
各組織中の比較はタンパク質レベルで行った。(-): WKYに比べSHRSPにおいて有意に減少、(±): 有意差なし、N.I.: 未調査

におけるmiRNA-214の増加により、部分的にMPD mRNAの分解と翻訳の抑制が生じていることも示唆

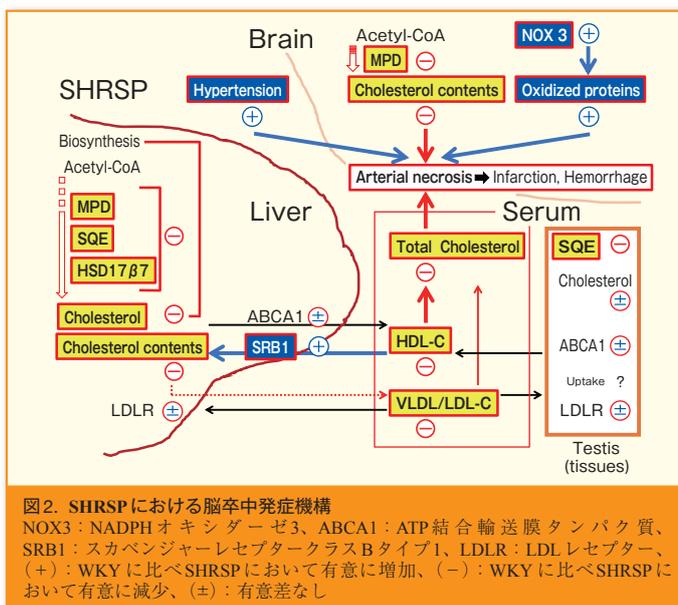
された(図1)<sup>6)</sup>。10週齢のSHRSPの脳を簡易的に分離した各領域(大脳、間脳、中脳)におけるMPDタンパク質レベルとChol含量は共に有意な低下を示した(図2)<sup>7)</sup>。

その他、MPDより下流のChol合成酵素であるスクアレノエポキシダーゼ(SQE)と17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ7(HSD17β7)の発現量(タンパク質ならびにmRNAレベル)はSHRSPの肝臓において有意な低下を示した(図1、表1:SQEは脳以外の調べた全ての組織で減少、HSD17β7は肝臓のみで減少)<sup>8,9)</sup>。

一方、図2に示すように血中LDL-Cholの取り込みに関与するLDLレセプター(LDLR)と余分なCholをHDLに排出するATP結合輸送膜タンパク質(ABCA1)の発現量は肝臓と精巣において、共に同程度の値(SHRSP=WKY)を示した<sup>8)</sup>。HDL-Cholの取り込みに関与するスカベンジャーレセプタークラスBタイプ1(SRB1)の発現量はSHRSPの肝臓において有意な増加を示した<sup>8)</sup>。これらの結果から、SHRSPの肝臓は低下したChol含量を補うためにSRB1の発現量の増加を引き起こし、結果、血中のHDL-Cholの低下を生じていることが示唆された。また、SHRSPの血清中のVLDLとLDLもWKYに比べ有意に低下していた。これらの原因として、SHRSPの肝臓におけるVLDLの放出低下、あるいは各組織のSQE低下によるChol含量低下を補うためにLDLR以外の他のレセプターの増加を引き起こしている可能性が考えられた。

さらに、虚血性脳卒中と酸化ストレスの関係について研究を進めた結果、内因的影響により10週齢のSHRSPの脳において酸化タンパク質の有意な増加が示された(図2)<sup>10)</sup>。その増加機構を明らかにするために、酸化ストレス除去酵素(15種類)ならびに誘導酵素(8種類)のmRNAレベルを測定し、有意差が認められた酵素のタンパク質量と活性を測定した結果、SHRSPにおけるNADPHオキシダーゼ3(NOX3:誘導酵素)の有意な増加が示された(図2)<sup>11)</sup>。

以上の結果をまとめると、高血圧、血中Chol低下(外因的)、脳内Chol低下(内因的)、脳内酸化ストレス増加は、血液脳関門構成細胞に悪影響を及ぼし動脈壊死を通じて、SHRSPの虚血性脳卒中発症に関与することが示唆された。近年、我々の研究室では新規脳卒中発症メカニズムの解明に向け、Cholと細胞接着分子(CLDND1)の関係について研究を進めている。一部の結果として、Cholの低下はCLDND1のプロモーター上流領域に存在する応答配列とオーファン受容体α(RORα)との結合性を減弱し、CLDND1の発現に対し抑制的に作用することが示された<sup>12)</sup>。今後は、SHRSPのChol合成低下に関与する酵素群等に対する転写調節因子の同定、ならびに血中Chol低下により生じる細胞間密着結合形成不全の詳細なメカニズムについて検討していく予定である。



#### 参 考 文 献

1. Sawamura M, et al. J Biol Chem. 1992; 267: 6051.
2. Michihara A, et al. J Biochem. 1997; 122: 647.
3. Michihara A, et al. J Biochem. 1998; 124: 40.
4. Michihara A, et al. Biol Pharm Bull. 2001; 24: 1417.
5. Michihara A, Yakugaku Zasshi 2004; 124: 683.
6. Michihara A, et al. Biosci Biotechnol Biochem. 2015; 79: 1759.
7. Katayama M, et al. BPB Reports 2020; 3: 106.
8. Michihara A, et al. Biol Pharm Bull. 2015; 38: 1879.
9. Matsuoka H, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2020; 47: 255.
10. Michihara A, et al. Biol Pharm Bull. 2010; 33: 518.
11. Michihara A, et al. Biol Pharm Bull. 2016; 39: 252.
12. Shima A et al. BPB Reports 2020; 3: 113.