

氏名	たなか しんいち 田中 眞一
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成30年3月7日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項
最終学歴	平成16年3月 九州大学薬学府創薬科学専攻 修了
学位論文題目	スタチンの多面的作用における SmgGDS の役割の解明
論文審査委員	主査 教授 下川 宏明 教授 宮田 敏男 教授 谷内 一彦

論文内容要旨

【背景】

3-ヒドロキシ3-メチルグルタリル (HMG) -CoA 還元酵素阻害薬であるスタチンには、その主な作用であるコレステロール低下作用だけでなく、コレステロール低下作用によらず心血管系疾患に対して保護的にはたらく多面的作用を有することが多数報告されている。多面的作用の分子的機序としては間接的な RhoA/Rho キナーゼ経路の抑制作用に由来すると一般的に考えられているが、我々はこれまでの研究で国内臨床用量のスタチンは RhoA/Rho キナーゼ経路を抑制することなく選択的に Rac1 経路を抑制することを明らかにした。しかし、スタチンが選択的に Rac1 経路を抑制する作用機序は未だ不明であった。そこで、国内臨床用量スタチンの選択的 Rac1 経路抑制作用の分子的機序を明らかにすることを目的として、低分子量 GTP 結合タンパク質 GDP 解離刺激因子 (SmgGDS) に着目して研究を行った。

【方法・結果】

スタチンをヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に添加し、添加から 24 時間後の HUVEC を回収し、ウエスタンブロットにより SmgGDS の発現量を確認した結果、スタチンは濃度依存的に SmgGDS の発現を増加させた。また、SmgGDS をノックダウンした HUVEC ではスタチンによる Rac1 分解促進作用およびアンジオテンシン II に誘発される活性酸素種の産生抑制作用が減弱した。

in vivo において、野生型マウスにスタチンを 1 日 1 回の頻度で 1 週間、経口投与した後、腹部大動脈を採取し、ウエスタンブロットにより組織抽出液中の SmgGDS の発現量を確認した結果、溶媒投与群に比べスタチン投与群では SmgGDS の発現が増加した。また、野生型マウスでは、アンジオテンシン II を 2 週間、浸透圧ポンプを用いて持続皮下投与することにより誘発される心血管中膜肥厚および血管周囲の線維化に対し、スタチンが保護的な作用を示したが、SmgGDS ヘテロ欠損マウスではスタチンによる保護的作用が消失した。

健常成人被験者において、国内臨床用量のスタチンの服用前後の末梢血多核白血球を採取し、ウエスタンブロットにより SmgGDS 発現量を確認した結果、スタチンは SmgGDS の発現量を増加させた。さらに、SmgGDS の増加と LDL コレステロールの変化との相関関係を確認した結果、SmgGDS の増加と LDL コレステロールの変化との間に相関関係は認められなかったが、SmgGDS の増加と酸化ストレス指標の一つであるマロンジアルデヒド修飾 (MDA) -LDL コレステロール減少との相関関係を確認した結果、MDA-LDL コレステロール減少との間に相関関係

(書式13)

が認められたその増加と酸化ストレス指標減少との間に相関関係が認められた。
最後に、スタチンによる SmgGDS 発現増加作用の分子的機序を明らかにするため、Akt1 または $\beta 1$ インテグリンをノックダウンした HUVEC にスタチンを添加し、添加から 24 時間後の HUVEC を回収し、ウエスタンブロットにより SmgGDS の発現量を確認した結果、スタチンによる SmgGDS 発現増加作用が消失した。

【結論】

in vitro、*in vivo* および健常成人被験者における研究により、国内臨床用量のスタチンは RhoA/Rho キナーゼ経路を介して多面的作用を発現するのではなく、 $\beta 1$ インテグリン/Akt1 経路を介して SmgGDS 発現量を増加させ、選択的に Rac1 経路および活性酸素種産生を抑制し、多面的作用を発現している可能性が示された。

審査結果の要旨

博士論文題目スタチンの多面的作用における SmgGDS の役割の解明.....

受付番号.....17B-1..... 氏名田中 眞一.....

スタチンはコレステロール生合成を低下させる高脂血症治療薬として世界中で広く使用されているが、近年、コレステロール低下作用によらず心血管系疾患に対して保護的にはたらく多面的作用を有することが報告され注目を集めている。多面的作用の分子的機序としては間接的な RhoA/Rho キナーゼ経路の抑制作用に由来すると一般的に考えられているが、過去の報告で用いられているスタチンの用量は、国内臨床用量よりも非常に高用量を用いており、臨床効果を説明する機序の全容は解明されていない。

近年、国内臨床用量のスタチンが RhoA/Rho キナーゼ経路を抑制することなく、選択的に Rac1 経路を抑制することが明らかにされた。本研究ではその機序として SmgGDS に着目し、血管内皮細胞、動物生体および健常成人被験者において、スタチンが SmgGDS の発現を増加させることを世界で初めて見出した。また、血管内皮細胞での siRNA を用いたノックダウン実験および SmgGDS 欠損マウスを用いた病態モデルでの実験を行い、詳細な分子的機序の解析を実施した。その結果、スタチンが $\beta 1$ インテグリン/Akt1 経路を介して SmgGDS の発現を増加させ、選択的に Rac1 の核内移行および分解を促進し、活性酸素種の産生を抑制することにより多面的作用を発現することを明らかにした。さらに、健常成人被験者において、国内臨床用量のスタチンによる SmgGDS の発現増加作用と LDL コレステロール低下作用との間に相関関係は認められず、酸化ストレス指標の一つであるマロンジアルデヒド修飾 LDL コレステロール低下作用との間に相関関係が認められることも発見した。これらの結果は SmgGDS を標的とした薬剤の開発や病態に即した治療薬の選択等が可能になることを示唆し、臨床的に重要な意義を持つ。

本研究はこれまで不明であった国内臨床用量スタチンの多面的作用の分子的機序を明らかにし、新たな治療戦略の可能性を見出した。研究の新規性および臨床的重要性の点で極めて優れていると判断する。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。

学力確認結果の要旨

審査委員出席のもとに、学力確認のための試問を行った結果、本人は医学に関する十分な学力と研究指導能力を有することを確認した。

なお、英学術論文に対する理解力から見て、外国語に対する学力も十分であることを認めた。