

第 6 回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（追加助成） <概要>

所 属	東京大学 医学部附属病院 検査部
氏 名	蔵野 信
研究テーマ	リゾリン脂質に注目したリポ蛋白学の発展

概要の構成は自由ですが、研究助成報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。研究目的、研究手法、研究成果などを 1 ページにまとめてください。（図表、写真などの貼付を含む）

本研究は、リゾリン脂質が、残存リスクの問題、リポ蛋白の多面的効果に關与している可能性を明らかにし、またリポ蛋白代謝により、リゾリン脂質の動態にどのように影響しているか、ということについて研究を深め、(1)リゾリン脂質の観点から、残存リスク克服のための理想的な治療法の提議および新しい創薬のターゲットの提唱する、(2)腎疾患、感染症、血栓症など、コレステロール転送・逆転送系以外に、リポ蛋白学の新たな医療応用分野の開拓することを目的とした。主な研究成果は以下の通りである。

(1)リゾリン脂質の観点からの、残存リスク克服のための理想的な治療法の提議および新しい創薬のターゲットの提唱

私は、LDL 受容体、CETP と ApoM/S1P の關連を報告してきたが、本追加助成期間では、LDL 受容体、CETP と LPA、LPI といったグリセロリゾリン脂質の關連について検討を行った。その結果、グリセロリゾリン脂質のうち、LPA、LPC、LPE、LPG、LPI は、相当量が LDL、HDL 分画に分布すること、LDL 受容体によって LPC、LPE、LPG、LPI がクリアランスされることによりその血漿濃度が低下すること、CETP によってグリセロリゾリン脂質は HDL 上から ApoB 含有リポ蛋白上に移動し、さらには、CETP により、血漿中の LPC、LPI 濃度が低下することを報告した（Biochem J. 2019 Dec 12;476(23):3565-3581.）。

リポ蛋白上のグリセロリゾリン脂質の生物学的作用については、現在研究を継続中であるが、アルブミンと結合する LPI、LPC がマクロファージに対して、催炎症作用、アポトーシス惹起作用が強いのにに対し、LDL あるいは HDL に結合している LPI、LPC はその作用がほとんど見られない、という運搬体によるグリセロリゾリン脂質の生物学的作用の修飾の存在が示唆されている。

(2)腎疾患、感染症、血栓症など、コレステロール転送・逆転送系が關与する動脈硬化性以外の疾患における、リポ蛋白学の新たな医療応用の可能性

私は、追加助成前より、ApoM/S1P によって HDL の抗動脈硬化以外の多面的効果の大部分が説明でき、また、ApoM/S1P を利用することにより、HDL の多面的効果を医療応用できる可能性について研究を行ってきた。本追加助成期間でも、その研究を継続して行い、ApoM/S1P により IgA 腎症モデルマウスである HIGA マウスに対する蛋白尿減少効果、組織像におけるメサンギウム増殖抑制効果、抗線維化効果があることを報告した（FASEB J. 2019 Apr;33(4):5181-5195.）。さらには、ApoM/S1P による抗アポトーシス作用、抗 DIC 作用により、リポポリサッカライド誘導敗血症モデルマウスにおいて ApoM/S1P がその生存率を向上させ、臓器障害を軽減させることを報告した（Thromb Haemost. 2018 Jun;118(6):1021-1035.）。

現在、まだ「リゾリン脂質に注目したリポ蛋白学の発展」については、研究を継続しているが、リゾリン脂質により、スタチンの抗炎症作用や CETP 阻害剤の抗動脈硬化作用における限界点が少なくとも部分的には説明でき、また、ApoM/S1P により HDL の多面的効果を検査医学的応用し、さらには、リコンビナント ApoM を用いることにより、治療医学的に応用できる可能性が示唆されてきた。

第 6 回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（追加助成） <詳細>

所 属	東京大学 医学部附属病院 検査部
氏 名	蔵野 信
研究テーマ	リゾリン脂質に注目したリポ蛋白学の発展

目的/研究方法/結果/考察/今後の課題など(3 ページ以内)

【目的】

リポ蛋白は血液中の脂質の運搬を担っており、末梢組織にコレステロールを運ぶ LDL は動脈硬化性、末梢組織からコレステロールを逆転送する HDL は抗動脈硬化性作用があることは基礎研究・疫学研究から確立し、冠動脈疾患のリスクファクターとして広く臨床検査で使われている。しかし、一方で、既存の古典的脂質の検査項目のみでは十分に冠動脈疾患の発症を予測できているとは言いがたく、また、HMGCoA 還元酵素阻害薬を用いて LDL コレステロールを健常人と同程度まで低下させても、冠動脈疾患の発症を 40%ほどしか抑制することができない（残存リスク）。一方で、低 HDL 血症と腫瘍性疾患、腎障害進行の危険性、感染症の予後など、まだその機序は解明されていない疫学的な関連や、基礎研究より示唆され始めている LDL や HDL の糖代謝、血栓症、免疫との関連など、リポ蛋白にはコレステロールのやり取り以外の多面的効果があると考えられており、リポ蛋白学・脂質学には更なる発展すべき領域がある。

このリポ蛋白学の残された課題を解決する手掛かりとして、申請者は生理活性脂質であるリゾリン脂質に注目している。

リゾリン脂質とは、エイコサノイドに続く第二世代の生理活性脂質として注目されている強力な多機能性生理活性脂質である。その代表例であるスフィンゴシン 1-リン酸(S1P)やリゾホスファチジン酸(LPA)は、動脈硬化性疾患の分野においても注目されている。S1P は、主に抗アポトーシス作用、血管透過性低下作用、血管内皮弛緩作用、抗炎症作用といった抗動脈硬化性作用を有し、一方、LPA は、炎症性サイトカイン発現作用、単球接着促進作用、血小板活性化作用などの動脈硬化作用を発揮する。さらには、S1P, LPA 以外にも、ヒト血液中には、リゾホスファチジルセリン (LPS)、リゾホスファチジルイノシトール(LPI)、リゾホスファチジルグリセロール(LPG)、リゾホスファチジルエタノールアミン(LPE)といった未だよくその役割が知られていないが、S1P, LPA と同様に強力な生理活性作用が期待されているリゾリン脂質も存在しており、特定の疾患によって生体内濃度が変化すると考えられる。実際、申請者らは、臨床研究において、これらのマイナーリゾリン脂質が、急性冠症候群において増加していること、また、セロトニンやプラスミノゲン活性化因子阻害物質 (PAI-I)と強い相関を示していること、基礎研究において、LPI, LPS は強い炎症惹起作用がある一方で、LPG, LPE には炎症抑制作用があること、などを発見している。

さて、リゾリン脂質とリポ蛋白の関係では、リゾリン脂質は、血小板の活性化などに続いて、局所にてアルブミンに結合する形で著明に増加するものもあるが、リポ蛋白上にも存在している。よく知られているところでは、血漿中の 3 分の 2 の S1P がアポ蛋白 M(ApoM)を介して HDL 上に存在しており、また、LPA, LPC は LDL に多く含まれている。現在までの検討では ApoM に結合している S1P には抗糖尿病作用、抗糖尿病性腎症作用、抗多臓器不全作用などがあり、ApoM/S1P は HDL の多面的作用を少なくとも部分的に説明できる可能性が示唆されている。さらには、申請者の前検討では、S1P, LPA, LPC 以外のマイナーリゾリン脂質もリポ蛋白上に存在しており、特に硫酸銅による LDL の酸化やメチルグリオキサールによる LDL の糖化によりその含有量が劇的に変わることが判明している。このように、リゾリン脂質は、リポ蛋白の多面的効果と関係がある可能性がある。

目的/研究方法/結果/考察/今後の課題など(3 ページ以内)

本研究では、このような背景より、このリゾリン脂質が、残存リスクの問題、リポ蛋白の多面的効果に関与している可能性を明らかにし、またリポ蛋白代謝により、実際の血液中においてリゾリン脂質の動態にどのように影響しているか、ということについて研究を深め、(1)リゾリン脂質の観点から、残存リスク克服のための理想的な治療法の提議および新しい創薬のターゲットの提唱する、(2)腎疾患、感染症、血栓症など、コレステロール転送・逆転送系が関与する動脈硬化性以外の疾患に、リポ蛋白学の新たな医療応用分野の開拓し、検査医学、治療医学の分野において、新しいリポ蛋白学を展開することを目的とした。

【研究方法・結果】

(1)リゾリン脂質の観点からの、残存リスク克服のための理想的な治療法の提議および新しい創薬のターゲットの提唱

私は、LDL 受容体、CETPとApoM/S1Pの関連を報告してきたが、本追加助成期間では、LDL 受容体、CETPとLPA、LPIといったグリセロリゾリン脂質の関連について検討を行った。その結果、グリセロリゾリン脂質のうち、LPA、LPC、LPE、LPG、LPI は、相当量が LDL、HDL 分画に分布すること、LDL 受容体によってLPC、LPE、LPG、LPI がクリアランスされることによりその血漿濃度が低下すること、CETP によってグリセロリゾリン脂質は HDL 上から ApoB 含有リポ蛋白上に移動し、さらには、CETP により、血漿中の LPC、LPI 濃度が低下することを報告した (Biochem J. 2019 Dec 12;476(23):3565-3581.)。

リポ蛋白上のグリセロリゾリン脂質の生物学的作用については、現在研究を継続中であるが、アルブミンと結合する LPI、LPC がマクロファージに対して、催炎症作用、アポトーシス惹起作用が強いのにに対し、LDL あるいは HDL に結合している LPI、LPC はその作用がほとんど見られない、という運搬体によるグリセロリゾリン脂質の生物学的作用の修飾の存在が示唆されている。

(2)腎疾患、感染症、血栓症など、コレステロール転送・逆転送系が関与する動脈硬化性以外の疾患における、リポ蛋白学の新たな医療応用の可能性

私は、追加助成前より、ApoM/S1P によって HDL の抗動脈硬化以外の多面的効果の大部分が説明でき、また、ApoM/S1P を利用することにより、HDL の多面的効果を医療応用できる可能性について研究を行ってきた。本追加助成期間でも、その研究を継続して行い、ApoM/S1P により IgA 腎症モデルマウスである HIGA マウスに対する蛋白尿減少効果、組織像におけるメサンギウム増殖抑制効果、抗線維化効果があることを報告した (FASEB J. 2019 Apr;33(4):5181-5195.)。さらには、ApoM/S1P による抗アポトーシス作用、抗 DIC 作用により、リポポリサッカライド誘導敗血症モデルマウスにおいて ApoM/S1P がその生存率を向上させ、臓器障害を軽減させることを報告した (Thromb Haemost. 2018 Jun;118(6):1021-1035.)。

また、現在、研究を進めているが、ApoM/S1P にはミトコンドリア機能保護作用があり、その結果、食餌誘導モデルマウスにおけるインスリン抵抗性改善作用、コリンメチオニン誘導脂肪肝モデルにおける肝線維化保護作用・肝合成能維持作用、ストレプトゾトシン誘発糖尿病性腎症モデルマウスにおける抗糖尿病性腎症作用など様々な生体にとって良い作用を引き起こす可能性を見出している。

さらには、実際のヒト血液検体にて ApoM の検査医学的応用の可能性について検討したところ、血清 ApoM 濃度はインスリン抵抗性と負の関係があり、また、肝線維化の進行に伴って血清 ApoM 濃度は低下すること、さらには、血清 ApoM 濃度は糖尿病性腎症のステージ 4 で低下し、また、5 年後の腎予後を正に予測する (血清 ApoM 濃度が低い患者ほど、eGFR の低下、糖尿病性腎症の進行、尿中蛋白量の増加がみられる) ことを発見した。

目的/研究方法/結果/考察/今後の課題など(3 ページ以内)

【考察】

以上の追加助成期間で行った研究結果を、以下の 2 点に分けて考察する。

(1)リゾリン脂質の観点からの、残存リスク克服のための理想的な治療法の提議および新しい創薬のターゲットの提唱

リポ蛋白上のグリセロリゾリン脂質の生物学的作用についての研究を進めていく必要があるが、LPC、LPI、LPG が概ね動脈硬化に対して悪いと考えられる作用があることを考えると、スタチンにより LDL 受容体の作用が増強されると LPC、LPI、LPG が低下することが考えられるが、そのことはスタチンの抗炎症作用を部分的に説明できる可能性があると考えられた。一方で、CETP の過剰発現により、LPC、LPI が低下することを考えると、CETP 阻害剤投与では、LPC、LPI が増加する可能性が考えられ、そのことは CETP 阻害剤の抗動脈硬化作用が証明されていない機序の一つと考えられる。

(2)腎疾患、感染症、血栓症など、コレステロール転送・逆転送系が関与する動脈硬化性以外の疾患における、リポ蛋白学の新たな医療応用の可能性

ApoM/S1P により HDL の様々な領域における疾患保護作用が説明できることが分かり、実際に、ヒト検体を用いた検討でも、その可能性が示唆された。これらの研究成果は、ApoM が HDL 機能を示す新しい検査法として有用である可能性を示唆するのみならず、例えばリコンビナント ApoM を用いることにより、HDL の多面的効果を治療的に応用できる可能性を示唆している。実際に、私の検討では、リコンビナント ApoM を用いることにより、リポポリサッカライド誘導敗血症モデルマウスその他臓器障害を軽減できることが分かった。

【今後の課題】

本研究は、追加助成期間において、一定の成果を認められたが、現在、以下のような課題に取り組んでいる。

・運搬体によるグリセロリゾリン脂質の生物学的作用の修飾

リポ蛋白を運搬体とするか、アルブミンを運搬体とするかにより、S1P の生物学的作用が異なることを発見していたが、本追加助成期間では、LPC や LPI といったグリセロリゾリン脂質の生物学的作用も運搬体の相違により大きく異なる可能性が示唆された。現在、その相違について、細胞への取り込まれた後の細胞内小器官への分布の相違、およびグリセロリゾリン脂質受容体への作用の相違という点から検討を行っている。

・ApoM/S1P のミトコンドリア機能保護作用の機序

ApoM/S1P はミトコンドリア機能保護作用があり、そのことが、様々な疾患に対する ApoM/S1P の保護的作用につながっている。しかしながら、なぜ、ApoM/S1P にミトコンドリア機能保護作用があるのか、についてはまだ不明である。現在、ApoM 欠損マウスの各臓器を用いた RNAseq による検討などにより、その詳細な機序について検討を続けている。

第 6 回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（追加助成） <発表実績/予定一覧>

所 属	東京大学 医学部附属病院 検査部
氏 名	蔵野 信

1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 論文 PDF 添付ありとなしに分けてリストを作成のこと。 ・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 ・ 国内外雑誌を問わない。 ・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 	
① <論文 PDF 添付あり>	
1	<u>Kurano M</u> , Kano K, Hara M, Tsukamoto K, Aoki J, Yatomi Y. Regulation of plasma glycerol-lysophospholipid levels by lipoprotein metabolism. Biochem J. 2019 Dec 12;476(23):3565-3581.
2	<u>Kurano M</u> , Tsuneyama K, Morimoto Y, Nishikawa M, Yatomi Y. Apolipoprotein M suppresses the phenotypes of IgA nephropathy in hyper-IgA mice. FASEB J. 2019 Apr;33(4):5181-5195.
3	<u>Kurano M</u> , Tsuneyama K, Morimoto Y, Shimizu T, Jona M, Kassai H, Nakao K, Aiba A, Yatomi Y. Apolipoprotein M Protects Lipopolysaccharide-Treated Mice from Death and Organ Injury. Thromb Haemost. 2018 Jun;118(6):1021-1035.
② <論文 PDF 添付なし>	
1	
2	
3	

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2019/6/20	第 41 回日本血栓止血学会学術集会,蔵野 信, 西川 真子,矢富 裕, リポポリサッカライド誘発 DIC モデルマウスにおけるアポ蛋白 M の抗血栓作用のメカニズムの検討
2	2019/5/24	第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会,蔵野 信, 塚本 和久, 原 眞純, 矢富 裕, スフィンゴシン 1-リン酸/アポ蛋白 M による抗インスリン抵抗性作用の解明
3	2018/10/19	第 33 回 日本糖尿病合併症学会学術集会, 蔵野 信, 塚本 和久, 原 眞純, 矢富 裕, アポ蛋白 M/スフィンゴシン 1-リン酸軸の糖尿病性腎症における役割.
4	2018/6/1	第 60 回 日本脂質生化学会, 蔵野 信, 塚本 和久, 清水 知, 矢富 裕, 糖代謝異常におけるスフィンゴシン 1-リン酸/アポ蛋白 M 軸の役割.
3. 投稿、発表予定（投稿中の論文も含める）		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		