

腸肝脂質代謝と FGF21 による動脈硬化発症制御機構

中川 嘉

富山大学 和漢医薬学総合研究所

【研究の背景】

Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)-responsive element-binding protein H (CREBH) は栄養飢餓時に発現が上昇する転写因子であり、その発現組織は肝臓と小腸に局限している。CREBH は肝臓でアポリポタンパクの発現を制御することで、脂肪分解酵素 Lipoprotein lipase (LPL) の活性を上昇させる。また、脂質代謝を改善させる転写因子 peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) 発現を上昇させることで、脂肪酸酸化酵素群の発現も上昇させる。さらに、生活習慣病改善ホルモンであり、主に肝臓で合成される Fibroblast growth factor21 (FGF21) の発現を上昇させる。これらの作用から CREBH は糖・脂質代謝を調節し、糖尿病、脂質異常症を改善させることを明らかにした (Nakagawa et al., 2014)。さらに、CREBH は小腸ではコレステロール吸収の律速トランスポーターである Niemann-Pick C1-like1 (NPC1L1) の発現を抑制し、コレステロール吸収を抑制することで、脂質異常症を改善させることも明らかにした (Kikuchi et al., 2016)。肝臓と小腸の各組織での CREBH 機能を明らかにするため、CRISPR/Cas9 システムを用い、CREBH flox マウスを独自に作成した (Nakagawa et al., 2016)。作成した肝臓特異的 CREBH KO マウスでも脂質代謝の異常が観察でき、CREBH の肝臓の機能を確認した。これまでの解析から、脂質代謝異常の終末像の一つである動脈硬化に対しても CREBH の機能が重要であることが想定できる。それゆえ、本課題ではこれまでに作成してきた CREBH 遺伝子改変マウスを駆使し、動脈硬化発症への影響を検討した。

【目 的】

本課題では CREBH 組織特異的 KO、CREBH Tg、FGF21 KO、LDLR KO マウスを用い、CREBH の動脈硬化発症に対する機能とその分子メカニズムを明らかにした。

【方 法】

LDLR KO CREBH 遺伝子改変マウスの作成

肝臓特異的 CREBH KO (CREBH L-KO) マウスおよび小腸特異的 CREBH KO (CREBH I-KO) マウスを LDLR KO マウスと交配し、LDLR KO CREBH L-KO および LDLR KO CREBH I-KO マウスを作成した。

肝臓で CREBH を過剰発現する (CREBH Tg) マウス、FGF21 KO マウス、LDLR KO マウスを交配し、LDLR KO CREBH Tg FGF21 KO マウスを作成した。

動脈硬化の評価

上記で作成したマウスにウェスタンダイエツトを摂食させ、動脈硬化を誘発した。血中脂質(トリグリセライド、コレステロール、遊離脂肪酸)および血中 FGF21 濃度を解析した。さらに、動脈硬化の状態の評価として、大動脈全体、および起始部の脂質沈着を評価した。

【結 果】

CREBH LKO/LDLR KO マウスおよび CREBH IKO/LDLR KO マウスを作成し、動脈硬化を誘導するウェスタンダイエツト

食を3か月間負荷した。コントロールマウス(CREBH flox/LDLR KO マウス)と比較し、どちらの KO マウスでも大動脈および大動脈起始部での脂質の蓄積が優位に増加しており、CREBH の肝臓、小腸それぞれの欠損が動脈硬化発症を誘導することを明らかにした(Nakagawa et al.,2021)。さらに、肝臓、小腸の両組織で CREBH を欠損させた CREBH DKO/LDLR KO マウスでは各組織での欠損よりも病態は悪化しており、各組織において CREBH が機能し、脂質代謝の恒常性に必要であることを示す結果となった(Nakagawa et al.,2021)。血中脂質量(トリグリセライド、脂肪酸)は動脈硬化の脂質蓄積量と同様なパターンを示しており、その結果が動脈硬化病巣での脂質の蓄積に CREBH が深く影響したと考えられる。一方、血中コレステロール値は肝臓欠損で上昇したのに対し、小腸欠損では変化がなかった。しかしながら、肝臓、小腸の両組織での欠損マウスでは肝臓のみ欠損よりも血中コレステロール値は上昇しており、肝臓、小腸が関連し増悪化したと考えられた。CREBH により制御される生活習慣病改善ホルモンであり肝臓から分泌される FGF21 は肝臓の CREBH 欠損に応じ、血中レベルで低下することを確認した(Nakagawa et al.,2021)。

一方、CREBH Tg マウスと LDLR KO マウスを交配し、CREBH Tg/LDLR KO マウスを作成するとともに、FGF21 KO マウスと LDLR KO マウスを交配し、FGF21 KO/LDLR KO マウスを作成した。さらに、CREBH Tg マウス、FGF21 KO マウス、LDLR KO マウスの3種類のマウスを交配し、CREBH Tg/FGF21 KO/LDLR KO マウスも作成した。それぞれのマウスにウェスタンダイエットを3か月負荷した。CREBH Tg/LDLR KO マウスは LDLR KO マウスに比べ、明らかに大動脈および大動脈起始部での脂質の蓄積が減少しており、動脈硬化の発症を抑制した(Nakagawa et al.,2021)。このとき、CREBH Tg/LDLR KO マウスでは血中 FGF21 値が大きく上昇するのに対し、血中トリグリセライド値は顕著に低下した(Nakagawa et al.,2021)。FGF21 KO/LDLR KO マウスでは LDLR KO マウスよりも血中トリグリセライドは上昇したが、CREBH Tg/FGF21 KO/LDLR KO マウスでは顕著に低下しており、FGF21 に依存せずに CREBH は血中トリグリセライドを低下させた(Nakagawa et al.,2021)。一方、血中遊離脂肪酸も同様なパターンを示したが、血中コレステロールはマウス間でほぼ変化はなかった(Nakagawa et al.,2021)。

【考 察】

CREBH は肝臓、小腸で発現するが、本課題では肝臓、小腸のどちらもが全身の脂質代謝に大きく影響し、それぞれの組織で CREBH が欠損したとしても動脈硬化病態の悪化することを見出した。一方、CREBH の肝臓過剰発現マウスでは脂質代謝の改善により LDLR KO マウスで見られる動脈硬化の悪化が改善した。CREBH は肝臓では脂質代謝を小腸では脂質吸収を制御し、全身性に脂質代謝を制御することを明らかにした。CREBHによる改善効果の原因として生活習慣病の改善ホルモン FGF21 想定し、FGF21 KO マウスと CREBH Tg/LDLR KO マウスを交配した。しかしながら、動脈硬化の改善は維持されており、FGF21 以外に原因があることを見出したが、そのメカニズムの特定は今後の課題である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

CREBH は PPAR α や FGF21 などの制御により主に脂質代謝を改善し、生活習慣病全体を改善すること関連することを我々はすでに報告している。PPAR α は元来、脂質異常症治療薬であるフィブラートの標的である。また、FGF21 は近年、同定された新規の脂質代謝改善ホルモンであり、すでに多くの製薬メーカーが治療薬としての開発を進めている。これら脂質異常症を中心とする治療標的を制御する CREBH の分子メカニズム、および治療効果の研究は今後の治療薬開発の礎となり、臨床医学への貢献が大きく見込まれる。

加えて、肝臓 CREBH Tg マウスで見られる食事誘導性肥満の改善に、FGF21 を介さない経路の存在を肝臓 CREBH Tg FGF21 KO マウスを使い、すでに明らかにした(Satoh et al.,2020)。さらに、本研究では CREBH による動脈硬化も PPAR α や FGF21 以外のメカニズムによるものであることを見出した。この結果は新たな脂質代謝、動脈硬化の治療標的を同定する可能性にもつながり、これら病気の患者に対する新規治療戦略構築に期待でき、臨床的意義も大きい。

最後に、本課題に対し助成して頂きました先進医薬研究振興財団に深く感謝いたします。

【参考・引用文献】

- Kikuchi, T., Orihara, K., Oikawa, F., Han, S.I., Kuba, M., Okuda, K., Satoh, A., Osaki, Y., Takeuchi, Y., Aita, Y., et al. (2016). Intestinal CREBH overexpression prevents high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia by reducing Npc1l1 expression. *Mol Metab* *5*, 1092-1102.
- Nakagawa, Y., Oikawa, F., Mizuno, S., Ohno, H., Yagishita, Y., Satoh, A., Osaki, Y., Takei, K., Kikuchi, T., Han, S.I., et al. (2016). Hyperlipidemia and hepatitis in liver-specific CREB3L3 knockout mice generated using a one-step CRISPR/Cas9 system. *Sci Rep* *6*, 27857.
- Nakagawa, Y., Satoh, A., Yabe, S., Furusawa, M., Tokushige, N., Tezuka, H., Mikami, M., Iwata, W., Shingyouchi, A., Matsuzaka, T., et al. (2014). Hepatic CREB3L3 controls whole-body energy homeostasis and improves obesity and diabetes. *Endocrinology* *155*, 4706-4719.
- Nakagawa, Y., Wang, Y., Han, S.I., Okuda, K., Oishi, A., Yagishita, Y., Kumagai, K., Ohno, H., Osaki, Y., Mizunoe, Y., et al. (2021). Enterohepatic Transcription Factor CREB3L3 Protects Atherosclerosis via SREBP Competitive Inhibition. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* *11*, 949-971.
- Satoh, A., Han, S.I., Araki, M., Nakagawa, Y., Ohno, H., Mizunoe, Y., Kumagai, K., Murayama, Y., Osaki, Y., Iwasaki, H., et al. (2020). CREBH Improves Diet-Induced Obesity, Insulin Resistance, and Metabolic Disturbances by FGF21-Dependent and FGF21-Independent Mechanisms. *iScience* *23*, 100930.