

## 特集 メタボリックシンドロームと動物モデル(2)

# WHHL/WHHLMIウサギのメタボリックシンドロームに関連する病態について

塩見 雅志, 伊藤 隆

神戸大学医学部附属動物実験施設

### 1. はじめに

従来から虚血性心疾患(動脈硬化による心筋虚血)には高脂血症とくに高コレステロール血症の改善が重要であると考えられてきた。しかし、近年、血清コレステロール値がそれほど高くない(現在の基準で)場合においても虚血性心疾患を発症するケースが多くあることが注目され始めている。このようなケースの原因の一つとしてメタボリックシンドロームが考えられている。すなわち、メタボリックシンドロームは虚血性心疾患に関連する複数の代謝異常が集積した病態のことであり、様々に定義されている。WHOの基準(1999年)では、2型糖尿病、インスリン抵抗性、耐糖能異常の中の一つ以上および高血圧、肥満(とくに内臓脂肪の蓄積)、高中性脂肪あるいは高比重リポ蛋白(HDL)が低い状態、ミクロアルブミン尿の中の二つ以上がある場合をメタボリックシンドロームとしている。2005年に開催された第75回欧州動脈硬化学会年次集会では、これらの因子に加え、レムナント様粒子の蓄積やサイズの小さい低比重リポ蛋白(LDL)、高インスリン血症、血栓溶解系の低下、食後高脂血症、内皮機能障害も重要な因子と考えられている。これらの因子は相互に関連しているため、本稿においてはこれらのすべてをメタボリックシンドロームに関連する因子とする。

### 2. WHHLウサギとWHHLMIウサギの特性

WHHLウサギの選抜育種の過程における特性の違いを表1に纏めた。WHHLウサギは1973年に渡辺によって発見された高脂血症を示す1匹の突然変異ウサギに由来し、系統開発によって確立された<sup>1)</sup>。その後の研究によってWHHLウサギの高コレステロール血症発症のメカニズムが解明された<sup>2)</sup>。すなわち、LDL受容体蛋白の遺伝子における12塩基対の欠失が原因して細胞表面に発現する受容体蛋白の減少と機能の低下によって血中にLDLが蓄積することが主要な原因であった。さらに、LDL受容体の機能低下によって、肝臓から分泌された低比重リポ蛋白(VLDL)の異化が遅延し、VLDLと中間比重リポ蛋白

表1 WHHL/WHHL-CA/WHHLMIウサギの病態

	WHHL	WHHL-CA	WHHLMI
高脂血症	○	◎	◎
低HDL血症	○	○	○
内臓脂肪蓄積	○	○	○
高血圧	△	△	△
高インスリン血症	×	○	○
インスリン抵抗性	×	○	○
血糖値	×	×	×
内皮細胞機能低下	×	△	○
動脈硬化			
大動脈	○	○	○
冠動脈	△	○	◎
心筋梗塞	×	×	◎

◎, 顕著; ○, 発症; △, 傾向(軽度); ×, 正常

(IDL)も蓄積している。一方、末梢組織からコレステロールを回収するHDLは著しく低下している。HDLの低下については、その主要アポ蛋白であるアポAの血中からの異化速度の亢進と血中への分泌速度の低下の両者が関係していると報告されている<sup>3)</sup>。これらのコレステロール代謝異常が原因となって、大動脈、冠動脈、頸動脈等に粥状動脈硬化(動脈内皮下にコレステロールやマクロファージが蓄積し、平滑筋細胞やコラーゲンなどが細胞外マトリクスを構成して内膜が肥厚する動脈硬化病変)が発生し、アキレス腱、四肢の指関節や皮膚にマクロファージが泡沫化して蓄積する黄色腫が発生する<sup>2)</sup>。さらに、腸間膜および腹腔背側(腎臓周囲)に多量の脂肪が蓄積している<sup>4)</sup>。また血圧は正常ウサギに比較してやや上昇している<sup>2)</sup>。

系統が確立した当時のWHHLウサギでは、大動脈には動脈硬化病変が発生するが、冠動脈の動脈硬化の発生率はきわめて低率であった。その後の選抜交配によって冠動脈にも動脈硬化が発生するようになったが(WHHL-CAウサギ)<sup>5)</sup>、冠動脈病変はマクロファージの蓄積が少なく、心筋梗塞を発症しなかった。さらなる選抜交配の結果、冠動脈にマクロファージが蓄積し、心筋梗塞を自然発症するWHHLMUウサギを確立した<sup>6)</sup>。一連の選抜交配の過程で、WHHLウサギは血清総コレステロール値が上昇し、高インスリン血症、インスリン抵抗性<sup>4,7)</sup>を示すようになり、電気泳動でVLDLとLDLの間にミッドバンドが認められるようになった<sup>8)</sup>。さらに、正常ウサギやWHHLウサギのVLDLは動脈硬化の進展に重要な役割を果たしているマクロファージを泡沫化することはないが、WHHL-CAウサギのVLDLはマクロファージを泡沫化させる<sup>8)</sup>。このVLDLはアポ蛋白Eの含量が多く、中性脂肪よりもコレステロールを多く含むコレステロールに富むVLDLである<sup>9)</sup>。さ

らに血管内皮細胞機能の指標となる血中の一酸化窒素濃度も選抜交配の過程で低下した<sup>9)</sup>。これらの変化が冠動脈病変の進展および心筋梗塞の発症に関連していると考えられる。したがって、実験に使用するWHHLウサギが系統育成(選抜交配)過程のどの段階にあるか(WHHL or WHHL-CA or WHHLMU)によってWHHLウサギの病態が異なることに留意が必要である。現在神戸大学ではWHHLMUウサギのみを系統維持している。

### 3. WHHL/WHHLMUウサギとメタボリックシンドローム

メタボリックシンドロームの定義にしたがってWHHL/WHHL-CA/WHHLMUウサギを検討してみると、WHHLウサギは高中性脂肪、低HDLと内臓脂肪蓄積、軽度の血圧上昇があった。一方、WHHL-CA/WHHLMUウサギでは、WHHLウサギの特性に加えて、高インスリン血症、インスリン抵抗性、内皮細胞機能の低下が認められ、WHOのメタボリックシンドロームの定義に合致する。すなわち、LDL受容体の機能異常による高コレステロール血症に加えてメタボリックシンドロームであると考えられる。冠動脈病変の進行や心筋梗塞の発症にメタボリックシンドロームが関与している可能性が示唆される。

### 4. 薬剤によるWHHL-CAウサギのインスリン抵抗性の改善と動脈硬化抑制について

コレステロール合成阻害剤(プラバスタチン)とインスリン抵抗性改善薬(トログリタゾン)をWHHL-CAウサギに投与し、動脈硬化の抑制効果を調べた<sup>4)</sup>。プラバスタチンはコレステロール合成の律速酵素であるHMG-CoA還元酵素の拮抗阻害薬であり、トログリタゾン(チアゾリジンジオン誘導体)は核受容体の一つであるPPAR- $\gamma$ のアゴニストであり、インスリン抵抗性を改善する薬

剤である。トログリタゾンはWHHL-CAウサギの血清脂質レベルには影響を与えなかったが、空腹時の血中インスリン値 (IRI, immunoreactive insulin level) は  $28.3 \mu\text{U/ml}$  から  $8.7 \mu\text{U/ml}$  (正常ウサギと同レベル) に低下した。インスリン抵抗性は、12時間以上絶食した後にグルコースを投与し、その後の血中グルコース値のAUC (area under concentration curve) とIRI値のAUCの比から求めたがインスリン抵抗性の指標も  $2.8 \pm 0.7$  から  $1.0 \pm 0.1$  へと正常レベルに改善した。また内臓脂肪と腎臓周囲の腹腔背側脂肪の蓄積は対照群のウサギがそれぞれ  $74 \pm 12\text{g}$ ,  $172 \pm 27\text{g}$  であったが、トログリタゾン投与群ではそれぞれ  $40 \pm 4\text{g}$  (54%),  $88 \pm 9\text{g}$  (51%) に低下した。これらの結果はインスリン抵抗性改善薬はWHHL-CAウサギのメタボリックシンドロームの病態を改善したことを示している。一方、コレステロール合成阻害剤であるプラバスタチンはWHHL-CAウサギのIRIレベル、インスリン抵抗性、内臓脂肪蓄積には影響を示さなかったが、血清コレステロール値を対照群のウサギに比較して約20%低下させた。リポ蛋白ではVLDLが約50%, LDLが約20%低下した。プラバスタチンとトログリタゾンの併用投与によって、血清コレステロール値、IRIレベル、インスリン抵抗性がいずれも改善し、内臓脂肪蓄積が低下し、その結果、四肢の黄色腫と大動脈および冠動脈の動脈硬化病変の発生が相加的に抑制された。以上の結果から、WHHL-CAウサギはメタボリックシンドロームの病態を示していると同時に薬剤によってその病態を改善できることから、ヒトのメタボリックシンドロームのモデル動物であると考えられる。

## 5. まとめ

WHHLMIウサギは高コレステロール血症にメタボリックシンドロームを併発しており、冠動脈

に重度の動脈硬化病変が発症し、心筋梗塞を発症する。WHHLMIウサギはインスリン抵抗性を示すが、空腹時の血糖値は正常範囲内である。しかし一部のウサギでは  $180 \text{mg/dl}$  以上の高値を示すことから、WHHLMIウサギを選抜育種することによって糖尿病を併発するモデル動物に改良できる可能性がある。WHHLMIウサギを育種改良し、LDL受容体がヘテロ接合体で糖尿病とインスリン抵抗性を発症するモデル動物を開発することによって、メタボリックシンドロームにより適したモデル動物になると期待できる。メタボリックシンドロームのモデルになりうる候補動物は複数報告されているが、マウスやラットのモデル動物ではリポ蛋白代謝に関連する複数の酵素 (ApoB editing 酵素, コレステロールエステル転送蛋白, 肝性トリグリセリドリパーゼ, HMG-CoA還元酵素等) および血中リポ蛋白のプロファイルがヒトと異なり、また動脈硬化が発生しにくく、発生した場合でもヒトの病態と異なっている。したがって、ヒトのリポ蛋白代謝およびリポ蛋白のプロファイルに類似し、動脈硬化病変もヒトに類似しているウサギでメタボリックシンドロームのモデル動物を確立することはきわめて重要と考えられる。今後の研究の進展が必要である。

## 6. 謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究支援をしていただいた三共株式会社に謝意を表します。

## 参考文献

- 1) Watanabe Y: Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHL-rabbit). *Atherosclerosis*, **36**:261-268, 1980.
- 2) 塩見 雅志: WHHLウサギの系統開発過程とその特性. *医学のあゆみ*, **157**: 714-719, 1991.
- 3) Sakai K, Yamamoto K, Sakai T, Yanagida T, Hidaka K, Sasaki J, Arakawa K: Kinetics of HDL-apo A-I in the WHHL rabbit, an animal model of familial

- hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, **79**:225-230, 1989.
- 4) Shiomi M, Ito T, Tsukada T, Tsujita Y, Horikoshi H: Combination treatment with troglitazone, an insulin action enhancer, and pravastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, shows a synergistic effect on atherosclerosis of WHHL rabbits. *Atherosclerosis*, **142**:345-353, 1999.
  - 5) Shiomi M, Ito T, Shiraishi M, Watanabe Y: Inheritability of atherosclerosis and the role of lipoproteins as risk factors in the development of atherosclerosis in WHHL rabbits: Risk factors related to coronary atherosclerosis are different from those related to aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **96**: 43-52, 1992.
  - 6) Shiomi M, Ito T, Yamada S, Kawashima S, Fan J: Development of an animal model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMI rabbit). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **23**:1239-1244, 2003.
  - 7) Zhang B, Saku K, Hirata K, Liu R, Tateishi K, Yamamoto K, Arakawa K: Insulin resistance observed in WHHL rabbits. *Atherosclerosis* **91**: 277-278, 1991.
  - 8) Ishii K, Kita T, Yokode M, Kume N, Nagano Y, Otani H, Yamamura T, Murayama S, Morimoto Y, Teranishi Y, Kawai C: Characterization of very low density lipoprotein from Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *J Lipid Res*, **30**:1-7, 1989.
  - 9) Yamada S, Ito T, Adachi J, Ueno Y, Shiomi M: Decreased arterial responses in WHHL rabbits, an animal model of spontaneous hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Exp Anim*, **51**:493-499, 2002.