HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

# Dasatinib suppresses atherosclerotic lesions by suppressing cholesterol uptake in a mouse model of hypercholesterolemia



| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2022-10-25<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 髙羽, 理光<br>メールアドレス:<br>所属: |
|---|---|
| URL | http://hdl.handle.net/10271/00004190 |

博士（医学）　髙羽　理光

論文題目

Dasatinib suppresses atherosclerotic lesions by suppressing cholesterol uptake in a mouse model of hypercholesterolemia

（高脂血症モデルマウスにおいてダサチニブはコレステロールの取り込みを抑制し動脈硬化病変を抑制する）

論文の内容の要旨

［はじめに］

慢性骨髄性白血病の予後はBCR/ABL1チロシンキナーゼ阻害剤（Tyrosine kinase inhibitor, TKI）の登場により劇的に改善した。そのため、予後は原病でなく合併症や併存疾患で規定されるようになった。その後、TKIの長期投与は心血管イベントの頻度を高めることが報告された。しかしながら、TKIの中でもダサチニブでは長期投与により心血管イベントが高まるかどうかは不明であった。これまで、TKIと動脈硬化の関係について、報告はされているが、ダサチニブと動脈硬化の関連については、十分に検討されていない。そこで、ダサチニブと動脈硬化の関連について検討を行った。

［材料ならびに方法］

本研究は浜松医科大学動物実験委員会（No. 2016062）の承認を得て行われた。高脂血症モデルマウスである *Ldlr*$^{-/-}$/*Apobec1*$^{-/-}$マウスへ、ダサチニブ、比較対象の TKI であるイマチニブとニロチニブ、並びに溶媒である Dimethyl sulfoxide（DMSO）を 8 週齢から 24 週齢まで計 16 週間経口投与した。24 週齢まで投薬後、マウスを屍殺し、血液を採取するとともに心臓、大動脈、肝臓を摘出した。

まず組織学的検討として摘出した心臓から大動脈起始部の標本を作製し、動脈硬化病変を観察した。その後、ImageJ を用い大動脈起始部の動脈硬化病変を比較した。また、摘出した大動脈を脂肪染色し、同様に大動脈全体の動脈硬化病変を比較した。その後、血中脂質の検討のため総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロールを測定した。

次にマクロファージにおける酸化 LDL（oxLDL）の取り込みの検討として高脂血症モデルマウスから造血細胞を採取し、マクロファージコロニー刺激因子を用い骨髄由来マクロファージへ分化させた。骨髄由来マクロファージへダサチニブ、イマチニブ、ニロチニブ、DMSO を暴露した。その後、oxLDL の取り込みを評価するため、各投薬群の骨髄由来マクロファージに蛍光シアニン色素で標識した oxLDL（DiI-oxLDL）を暴露した。ImageJ を用いて DMSO とダサチニブ、イマチニブ、ニロチニブの蛍光強度をそれぞれ比較した。

最後に分子生物学的検討としてダサチニブまたは DMSO が投薬されたマウスの肝臓における RNA シーケンスを行った。さらに、ダサチニブ、イマチニブ、

ニロチニブのいずれかを投薬したマウスの肝臓からタンパクを抽出し、ウェスタンブロッティングを行った。続いて、ダサチニブまたはDMSOを投与したマウスの腹腔マクロファージからRNAを抽出した。さらに、腹腔マクロファージへダサチニブまたはDMSOを暴露しRNAを抽出した。

［結果］

ダサチニブが投薬されたマウスではDMSOが投薬されたマウスと比較して大動脈起始部と大動脈全体ともに動脈硬化病変の減少が認められた。一方、イマチニブ、ニロチニブではDMSOと比較し、特に変化はみられなかった。総コレステロール、LDL コレステロールはダサチニブが投薬されたマウスで上昇が認められた。骨髄由来マクロファージにおける DiI-oxLDL の取り込みはダサチニブ暴露群で低下していた。肝臓におけるRNAシーケンスによる網羅的解析ではダサチニブにおいて*Sort1*の発現の低下が認められた。*Sort1*はsortilinをコードする。ウェスタンブロッティングではsortilinの発現は他のTKIと比較してダサチニブで低下していた。一方、腹腔マクロファージでは*Sort1*の発現低下は認めなかったが、スカベンジャー受容体である*Cd36*の発現低下を認めた。

［考察］

本研究では高脂血症モデルマウスに TKI を投薬し、動脈硬化を評価した。その結果、ダサチニブ投薬群ではマクロファージのoxLDLの取り込みを抑制することで動脈硬化病変が減少したと考えられた。ダサチニブは他のTKIと異なり、50 以上のチロシンキナーゼターゲットを持つマルチキナーゼ阻害剤である。これまで抗炎症作用や抗線維化作用が報告されている。今回の研究では、腹腔マクロファージを用いた実験で oxLDL の取り込みに重要である*Cd36*の発現低下が認められた。以上からダサチニブによる動脈硬化病変の抑制は、*Cd36*の発現低下を介しoxLDLの取り込みを抑制したことによる可能性が考えられた。さらなるターゲットの同定のため肝臓でのRNAシーケンスを行い、*Sort1*をターゲット候補の1つとして同定した。*Sort1*はマクロファージ、肝細胞、神経細胞など幅広く存在し、コレステロールの取り込みを含めたマルチリガンド受容体として機能する。ダサチニブ投与による血中コレステロール値の上昇はダサチニブが肝臓での*Sort1*の発現を低下させ、コレステロール代謝に影響を及ぼした可能性が考えられた。一般に血中コレステロールが上昇すると動脈硬化は促進されるが、本研究では動脈硬化が抑制された。その原因として、ダサチニブがマクロファージにおけるoxLDLの取り込みを抑制したことにより、動脈硬化が抑制されたと思われる。

［結論］

ダサチニブはマクロファージのスカベンジャー受容体である*Cd36*の発現を抑制することでoxLDLの取り込みを抑制し、高脂血症モデルマウスの動脈硬化病変を減少させた。