

Title	Apelin Inhibits Diet-Induced Obesity by Enhancing Lymphatic and Blood Vessel Integrity
Author(s)	澤根, 美加
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34313
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	澤根 美加
論文題名 Title	Apelin Inhibits Diet-Induced Obesity by Enhancing Lymphatic and Blood Vessel Integrity (アペリンは血管・リンパ管構造を正常化することによって食餌性肥満を抑制する。)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>肥満において脂肪組織の増大と血管新生は密接に関わる。近年、脂肪組織内の血管新生を抑制し、脂肪細胞の増殖や生存を調節することによる抗肥満治療の可能性も提唱されており、肥満における血管機能の役割を明らかにすることの重要性が示唆されている。更に、Prox1のヘテロノックアウトマウスがリンパ管機能異常を呈し肥満を惹起することが報告され、血管だけでなくリンパ管機能と脂肪組織の相互作用が注目されている。一方で、このような血管・リンパ管機能と脂肪制御のメカニズムは不明な点が多い。本研究では、血管・リンパ管機能の異常、特にこれらの構造不安定化が脂肪蓄積を誘導するメカニズムを解明し、血管・リンパ管構造の安定化に寄与するapelin/APJシグナルの寄与を解析することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>Apelinノックアウト (KO) マウスに対して高脂肪餌を17週間負荷したところ、野生型 (WT) マウスに比べ、顕著に体重増加が促進し、鼠径部下脂肪、及び腸間膜内臓脂肪量が增大した。それら脂肪組織を採取し、脂肪細胞を染色すると、脂肪細胞が肥大化していた。一方で、摂餌量は変わらず、血中の中性脂肪や遊離脂肪酸量などに変化は認められなかった。そこで、KOマウスの血管・リンパ管機能を解析するため、KOマウスの耳介部皮膚にエバンスブルーを皮内注射しリンパ管を可視化したところ、リンパ管からのエバンスブルーの漏出がみられた。更に、皮膚組織の血管・リンパ管を免疫染色すると、血管・リンパ管の異常な拡張がみられ、構造不安定化が生じていた。</p> <p>血管・リンパ管構造の不安定化が脂肪の肥大化を誘導するメカニズムを解明するため、リンパ管内皮細胞と前駆脂肪細胞の共培養系を確立した。トランスウエル上にリンパ管内皮細胞を培養することでリンパ管壁を模倣し、下層に前駆脂肪細胞を培養した。内皮細胞の上から高脂肪餌を負荷したマウスの血漿、及び通常餌を負荷したマウスの血漿を添加し、下層の前駆脂肪細胞の分化状態をオイルレッド法により解析したところ、高脂肪餌負荷マウスの血漿を添加した群において脂肪細胞の分化が促進された。そこで、高脂肪餌の摂取により血中で増加した脂肪酸がリンパ管内皮細胞の構造を脆弱にし、脂肪細胞を分化させる可能性を検証するため、血中で増加したオレイン酸をリンパ管内皮細胞に添加し、その後の漏出性を評価した。すると、オレイン酸によってリンパ管内皮細胞の漏出性が亢進した。更に、各種血中脂肪酸で脂肪細胞を刺激すると、脂肪細胞の分化が促進された。以上より、高脂肪餌摂取により上昇するオレイン酸が血管・リンパ管構造を不安定化し、その結果漏出した脂肪酸が直接脂肪細胞の肥大化を促進すると考えられる。更に、apelinで前処理した内皮細胞にオレイン酸を添加し漏出性を評価すると、apelinはオレイン酸による漏出性亢進を抑制した。また、アドヘレンスジャンクションであるVE-cadherinを染色するとapelinはVE-cadherinの発現を正常化することがわかった。以上より、apelinはオレイン酸による血管・リンパ管の構造不安定化を抑制することで、脂肪蓄積を抑えたと考えられる。</p> <p>我々はin vivoで血管・リンパ管構造の安定化が肥満を抑制することを検証するため、血管・リンパ管安定化作用をもつCOX2インヒビターを混餌した高脂肪餌をKOマウスに対して負荷した。すると、KOマウスで生じる体重や脂肪量の増加がWTマウスと同程度となり、血管・リンパ管の異常な拡張も抑制されていた。最後に、apelinを表皮で高発現させたapelinトランスジェニック (TG) マウスに高脂肪餌を負荷すると、体重増加、及び皮下脂肪量の増加が抑制された。TGマウスの皮膚血管・リンパ管構造を免疫染色すると、拡張が抑えられていた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>以上より、血管・リンパ管構造の不安定化が肥満を誘導するメカニズムとして、高脂肪食の摂取により血中で上昇するオレイン酸による血管・リンパ管漏出性の亢進と、そこから漏出する脂肪酸による脂肪細胞の肥大化に関わることが示された。更に、我々は血管・リンパ管構造を安定化するapelinがオレイン酸による血管・リンパ管の不安定化を抑制し、脂肪蓄積を抑制するという知見を得た。これらの研究成果はapelinという因子をターゲットに、血管・リンパ管機能を基点とした新たな抗肥満の治療戦略となる可能性がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 澤根 美加

	(職)	氏名
論文審査担当者	主査	大阪大学教授 高倉 伸幸
	副査	大阪大学教授 岡田 雅人
	副査	大阪大学教授 三木 裕明

論文審査の結果の要旨

肥満において脂肪組織の増大と血管新生は密接に関わる。また、血管だけでなくリンパ管機能も脂肪組織と相互作用する可能性が示されており、近年、Prox1ヘテロノックアウトマウスがリンパ管形成異常とともに、肥満を惹起することが報告された。また、リンパ浮腫の臨床知見として、浮腫部位に皮下脂肪が蓄積することも報告されている。しかし、血管・リンパ管機能と脂肪制御のメカニズムは不明な点が多い。本研究では、血管・リンパ管構造の不安定化が脂肪を蓄積するメカニズム解明を目的とし、構造安定化因子であるapelinの肥満への寄与を解析した。

結果、apelinノックアウトマウスは漏出性の高い血管・リンパ管構造となり、顕著な食餌性肥満を誘導した。そのメカニズムとして、血管・リンパ管内皮細胞のアドヘレンスジャンクションの局在が変化し構造が不安定化すると、脂肪酸が過度に漏出し、脂肪分化を促進することを明らかにしている。一方で、apelinは血管・リンパ管構造を安定化させ、肥満を抑制することを証明している。

本研究は、血管・リンパ管機能を基点とした抗肥満メカニズムという新たな視点をもたらし、apelinが抗肥満治療の標的となる可能性を見出したものである。よって、本研究成果は博士の学位授与に値すると考える。