



Title	A Novel Adipocyte-derived Plasma Protein, Adiponectin, Modulates Endothelial Inflammatory Response
Author(s)	大内, 乗有
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42887
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	おお うち のり ゆき 大 内 乗 有
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 8 6 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成13年 2 月 13 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	A Novel Adipocyte-derived Plasma Protein, Adiponectin, Modulates Endothelial Inflammatory Response (新規脂肪細胞由来血漿蛋白アディポネクチンの内皮細胞における炎症性反応の調節機構)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 佑 次 (副査) 教 授 宮 坂 昌 之 教 授 荻 原 俊 男

論 文 内 容 の 要 旨

[背景と目的]

生活習慣の変化に伴い、わが国において冠動脈疾患をはじめとする血管病の発症は著明に増加しており、その発症基盤として脂肪組織の過剰蓄積状態、すなわち肥満が重要な役割を果たしている。私達は脂肪組織から直接分泌される分子が血管病発症に関与することを明らかにし、脂肪組織特異的に高発現する新規遺伝子として apM1 (Adipose Most Abundant Gene Transcript1) をクローニングした。apM1遺伝子産物は244アミノ酸からなる蛋白をコードし、三量体を形成する G-X-Y 繰り返し構造と補体 C1q やコラーゲン VⅢ、X と相同性のある球状構造を有する水溶性コラーゲン様分泌蛋白であり、アディポネクチンと名付けた。アディポネクチンは血漿蛋白であり、ヒト血中に3-30 $\mu\text{g/ml}$ と高濃度に存在し、脂肪組織特異的な発現を示すにもかかわらずその血中濃度は肥満度と有意な負の相関を示し、肥満者ではその血中濃度は著明に低下していた。従って、アディポネクチンが肥満と血管病をつなぐ新たな分子の一つとなる可能性が考えられた。

本研究では、臨床的に、冠動脈疾患患者における血中アディポネクチン濃度を検討し、基礎的に、慢性の炎症性反応としてとらえ得る血管病の発症に重要である血管内皮細胞への単球接着に対するアディポネクチンの作用の分子機構を解析した。

[方法ならびに成績]

1) 冠動脈疾患患者における血中アディポネクチン濃度

血中アディポネクチン濃度は私達が開発し既に報告した ELISA 法にて測定した。冠動脈疾患患者 (男性30例、女性12例) と年齢及び肥満度を合わせた正常対照者 (男性58例、女性20例) を比較検討した。血中アディポネクチン濃度は冠動脈疾患患者において男性は $3.4 \pm 1.8 \mu\text{g/ml}$ 、女性は $4.3 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$ 、正常対照者において男性は $7.4 \pm 3.5 \mu\text{g/ml}$ 、女性は $9.3 \pm 6.8 \mu\text{g/ml}$ であり、冠動脈疾患患者において男女共に有意に低値であった。

2) アディポネクチンの血管内皮細胞への結合

ヒト大動脈内皮細胞初代培養系を用い、リコンビナントアディポネクチンをビオチン化して添加し Cell-ELISA 法で測定した。アディポネクチンはヒト大動脈内皮細胞に対して飽和性かつ特異的な結合能を有した。

3) 単球の血管内皮細胞への接着に対するアディポネクチンの作用

ヒト大動脈内皮細胞をアディポネクチンで前処理後に、ヒトにおける代表的な血管傷害性分泌因子である $\text{TNF-}\alpha$

(10U/ml) で刺激し、FITC ラベルしたヒト単球系細胞株 THP-1細胞を添加し検討した。アディポネクチンはヒトにおける生理的血中濃度の範囲で TNF- α で刺激した内皮細胞に対する THP-1細胞の接着増加を濃度依存的に抑制した。

4) アディポネクチンの接着分子発現に対する作用

単球の血管内皮細胞への接着に重要である接着分子 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)、endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 (E-selectin)、intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) の発現を Cell-ELISA 法、Northern blot 法にて解析した。アディポネクチンはヒト大動脈内皮細胞において TNF- α 刺激による VCAM-1、E-selectin 及び ICAM-1の発現増加を蛋白レベル、mRNA レベルで有意に抑制した。

5) NF- κ B 経路に及ぼすアディポネクチンの作用

VCAM-1、E-selectin、ICAM-1のプロモーターに共通の転写因子 NF- κ B 活性を Gel shift assay で解析し、TNF- α によるリン酸化シグナルは Western blot 法にて解析した。アディポネクチンは NF- κ B の抑制因子である I κ B- α のリン酸化を特異的に抑制することによりヒト大動脈内皮細胞において TNF- α 刺激による NF- κ B の活性化を抑制した。アディポネクチンはヒト大動脈内皮細胞における cAMP レベルを濃度依存的に増加させ、アディポネクチンの I κ B- α のリン酸化抑制作用はアデニレートシクラーゼ阻害剤やプロテインキナーゼ A 阻害剤により消失した。

[総括]

血中アディポネクチン濃度の低下は臨床的に血管病の危険因子としてとらえ得るものであると考えられた。脂肪細胞で合成されるアディポネクチンは cAMP を介し NF- κ B 経路のシグナルとクロストークすることにより血管内皮細胞における炎症性反応の内因性調節因子として血管病の進展に抑制的に作用することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は新規脂肪細胞由来血漿蛋白アディポネクチンが血管内皮細胞における炎症性反応の内因性調節因子として動脈硬化の進展に抑制的に作用することを報告したものである。冠動脈疾患をはじめとする動脈硬化の発症基盤として脂肪組織の過剰蓄積状態、すなわち肥満症が重要な役割を果たしている。脂肪組織から直接分泌される分子が動脈硬化発症に関与することが報告されているが、肥満症における動脈硬化の発症機構は未だ十分に解明されていない。本申請者はヒト脂肪組織発現遺伝子の解析過程で新たに発見された脂肪細胞特異的発現を示す分泌蛋白であるアディポネクチンの生理的機能と病態における意義を明らかにした。まず、アディポネクチンは血漿蛋白であり、冠動脈疾患患者における血中アディポネクチン濃度は正常対照者と比べ、有意に低値であることを示した。さらに、ヒト大動脈血管内皮細胞において、アディポネクチンは cAMP-PKA 経路を介して TNF- α 刺激による I κ B- α のリン酸化と NF- κ B 活性化を抑制し、単球の接着と接着分子発現抑制作用を有していることを明らかにした。従って、アディポネクチンは動脈硬化発症に防御的に作用することが示唆された。本研究は新規脂肪由来血漿蛋白アディポネクチンの内皮細胞における炎症性反応の調節機構を明らかにしており、肥満症における動脈硬化発症機構を解明する上で極めて意義深く学位に十分値するものである。