



Title	脂肪細胞由来因子アディポネクチンの血管内皮保護および血管新生作用の解明
Author(s)	小林, 英毅
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46078
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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 小 林 英 毅

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 19107 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 2 月 16 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 脂肪細胞由来因子アディポネクチンの血管内皮保護および血管新生作用の解明

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 下村伊一郎

(副査)

教 授 堀 正二 教 授 倉智 嘉久

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

我が国において、肥満症を基盤とする動脈硬化性疾患の増加が大きな問題となっている。しかし、体脂肪の過剰蓄積と動脈硬化発症をつなぐメカニズムは十分に明らかとはなっていなかった。私達は、内臓脂肪の過剰蓄積が冠動脈疾患を初めとする動脈硬化の基盤病態であることを明らかにし、内臓脂肪症候群の概念を提唱した。そして、脂肪組織が様々な生理活性分子を産生していることを明らかにし、アディポネクチンを発見した。アディポネクチンは脂肪組織のみから産生、分泌され、三量体、六量体、多量体として血中に存在する。私達はアディポネクチンの総血中濃度が内臓脂肪蓄積に伴って低下し、減量により増加することや肥満症・冠動脈疾患・2型糖尿病においていずれも対照に比し有意に低値をとること、また、アディポネクチン欠損マウスが栄養負荷により糖尿病を発症し、血管傷害によるリモデリング異常を生じること、さらに、粥状動脈硬化のモデルマウスにアディポネクチンを過剰発現させることで動脈硬化が有意に抑制されることを明らかにしてきた。従って、アディポネクチンは抗動脈硬化・抗糖尿病作用を有する血漿蛋白であると考えられる。

血管内皮細胞は血液と直接接合しており、全身の恒常性維持に重要な役割を担っている。動脈硬化部位において高頻度に血管内皮細胞死が認められることから、血管傷害とそれにより引き起こされる血管内皮細胞死は、動脈硬化の発症・進展に重要な役割を持つと考えられている。血管内皮細胞に細胞死を引き起こす因子としては、高血糖、腫瘍壊死因子、酸化脂質などが報告されており、これらは肥満症関連疾患でその血中濃度が増加していることが知られている。しかし、細胞死を抑制する血漿因子についてはいまだ十分には明らかとなっていない。また、動脈硬化疾患においては血管新生異常が認められ、副側血行路として働く血管網の発達が不十分であることが特徴として挙げられる。

本研究は、内臓脂肪症候群に基づく動脈硬化発症機序として、アディポネクチンの血管内皮保護作用と血管新生作用を明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

ヒト血中におけるアディポネクチン存在様式を検討するため、血漿をゲルろ過により分離し、アディポネクチンの三量体/六量体/多量体の量を ELISA にて定量した。冠動脈疾患患者において、相対的に多量体アディポネクチンが低下し、三量体が増加していた。また減量により、多量体アディポネクチン量にのみ有意な増加が認められ、三量体お

よび六量体量には変化が認められなかった。従って、アディポネクチン血中濃度は、多量体量の変化が規定すると考えられた。

次に、アディポネクチンの血管内皮細胞に対する作用について検討した。ヒトリコンビナントアディポネクチンは、ヒトさい帯血管内皮細胞 (HUVECs) において、その遊走及び管腔構造形成を濃度依存的に促進し、低血清刺激により誘導される細胞死を濃度依存的に抑制した。この際、AMP-activated kinase (AMPK)、Akt そして endothelial nitric oxide synthase (eNOS) のリン酸化亢進が認められた。アデノウイルスにより dominant-negative 型 AMPK または dominant-negative 型 Akt を発現させると、アディポネクチンによる eNOS のリン酸化、HUVECs の遊走及び管腔構造形成活性は抑制された。更に dominant-negative 型 AMPK は、アディポネクチンによる Akt のリン酸化を抑制した。また phosphatidylinositol-3 kinase 阻害剤は、アディポネクチンによる Akt と eNOS のリン酸化及び HUVECs の遊走と分化を阻害する一方、AMPK のリン酸化には影響を与えなかった。以上のことから、アディポネクチンは AMPK-PI3-kinase-Akt 経路を活性化することが示された。また、アディポネクチンは、*in vivo* 血管新生モデルであるマウスマトリゲル試験およびウサギ角膜試験において、新生血管を誘導した。アディポネクチンによる細胞死抑制作用も dominant-negative 型 AMPK をアデノウイルスにより HUVECs に導入することにより消失した。さらに、リコンビナントアディポネクチンをゲルろ過により三量体/六量体/多量体に分離して、細胞死抑制作用を評価したところ、多量体にのみ細胞保護作用が認められた。また、多量体を処理したときにのみ、AMPK のリン酸化亢進が確認された。以上のことから、アディポネクチン多量体が AMPK を活性化することで、細胞保護的に作用することが示された。

【総括】

多量体アディポネクチンが、ヒトにおける血中濃度を規定し、血管内皮細胞保護作用および血管新生作用を介してその抗動脈硬化作用に重要な役割を担うことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

現在までの研究から、アディポネクチンは抗動脈硬化・抗糖尿病作用を有する分泌蛋白であることが報告されてきたが、血管細胞に対する作用については十分明らかではなかった。本研究では、アディポネクチンの血管内皮細胞に対する生理作用を解析した。アディポネクチンは、AMPK/Akt 経路の活性化を介して血管内皮細胞保護活性および血管新生活性を示した。また、ヒト血中におけるアディポネクチン形態解析を行った。総アディポネクチン濃度の変動時には、アディポネクチンの多量体・6量体・3量体のうち多量体が特異的に変化した。多量体アディポネクチンのみが、血管内皮保護作用を示した。従って、多量体アディポネクチンが、ヒトにおける血中濃度を規定し、この多量体による血管内皮細胞保護作用および血管新生作用が、アディポネクチンの抗動脈硬化活性の一部であると考えられた。以上の研究結果は、アディポネクチンの抗動脈硬化作用機構の一端を明らかとしたものであり、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。