

Title	Adiponectin binds to chemokines via the globular head and modulates interactions between chemokines and heparan sulfates
Author(s)	政家, 寛明
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/48953
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	まさ政 いえ家 ひろ寛 あき明
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 21556 号
学位授与年月日	平成 19 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Adiponectin binds to chemokines via the globular head and modulates interactions between chemokines and heparan sulfates (アディポネクチンの球状ドメインは、ケモカインとヘパラン硫酸間の相互作用を修飾する)
論文審査委員	(主査) 教授 金倉 譲 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 下村伊一郎

論文内容の要旨

[目的]

Adiponectin は脂肪細胞特異的分泌蛋白で、抗糖尿病・抗動脈硬化作用を有することが知られているが、近年、抗炎症作用に関する報告が相次いでなされてきている。我々も、Adiponectin によるマクロファージの TNF- α 産生抑制作用や B リンパ球産生抑制作用などを報告してきた。しかし、その作用機序は明らかではない。今回、私は、アディポネクチンの作用機序を明らかにすることを目的として、Adiponectin 結合蛋白を網羅的に解析した。さらにその結合意義に関する検討を行った。

[方法および結果]

MS-5 ストローマ細胞株から 5' 端 cDNA ライブラリーを作製、シグナルシーケンスを持つ cDNA を濃縮した後にアディポネクチンとの結合を ELISA 法でスクリーニングするという 2 段階クローニングを行った。結果、2 つのケモカイン SDF-1 と CCF18 を新たなアディポネクチン結合蛋白として同定した。アディポネクチンと SDF-1、CCF18 の部分欠損変異蛋白を作製し ELISA にて各結合を解析すると、アディポネクチンの球状領域と SDF-1、CCF18 の中央部が結合に重要であることが明らかとなった。また、アディポネクチンを固相化した ELISA にて、RANTES、MCP-1、MIP-1 α などのケモカインも結合することが判明した。以上、私は、アディポネクチンは幅広いケモカインと結合することを見出した。次に、アディポネクチンとケモカインの結合の意義を検討した。Jurkat 細胞株は SDF-1 受容体 CXCR4 を発現するが、アディポネクチンは SDF-1 と Jurkat 細胞株の結合には影響せず、SDF-1 による Jurkat 細胞株の遊走能や細胞内カルシウム上昇にも影響を与えなかったことから、アディポネクチンは SDF-1 と CXCR4 との結合には影響を与えないと考えられた。一方、アディポネクチンが SDF-1 とヘパリンとの結合を阻害すること、ヘパリンが SDF-1 とアディポネクチンとの結合を阻害することが ELISA や免疫沈降により明らかとなった。そこで、アディポネクチン・ヘパリン・SDF-1 の関連について検討した。Hela 細胞株を SDF-1 にて刺激した場合ヘパラン硫酸依存性に MMP-9 遺伝子発現が誘導されることは知られているが、アディポネクチンはこの SDF-1 誘導 MMP-9 遺伝子発現を抑制した。以上より、アディポネクチンは SDF-1 のヘパラン硫酸への結合を阻害すると考えられ、アディポネクチンは SDF-1 の生体内での局在に対し影響を及ぼすと考えられた。実際、アディポネ

クチン欠損マウスでは野生型に比べ血清中の SDF-1 濃度が高く、また、末梢血中により多くの造血前駆細胞が存在していた。さらに、GVHD 患者の腸管内血管壁にアディポネクチンと SDF-1 が共局在することも明らかになった。

[総括]

新しいアディポネクチン結合蛋白として、ケモカインである SDF-1、CCF18 を同定した。炎症巣で中心的役割をもつケモカインの生体内局在は主にヘパラン硫酸などのプロテオグリカンにより決定される。本研究を通じ、アディポネクチンがケモカインの局在を調節する作用を有することが明らかとなり、アディポネクチンの抗炎症作用の一因であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、シグナルシーケンスを持つ cDNA を濃縮した後にアディポネクチン (APN) との結合を ELISA にてスクリーニングするという独自に開発した 2 段階発現クローニング法を用いて APN 結合蛋白を網羅的に解析したものである。SDF-1、CCF18、MIP-1 α 、RENTES、MCP-1 などの幅広いケモカインが新しい APN 結合蛋白として同定され、APN は主にケモカインのヘパリン結合に影響することが明らかになった。事実、APN 欠損マウスでは野生型に比べ、SDF-1 の血中濃度が高値を示した。APN は抗糖尿病・抗動脈硬化・抗炎症作用など幅広い生体内作用が知られているが、その作用機序については依然不明な点が多い。今回判明した APN とケモカインの相互作用に関する知見は、APN の抗炎症作用の機序解明に繋がるとともに炎症反応と脂肪組織との関連に新しい概念をもたらすものである。よって、本研究は、独創性に富み、得られた結果も興味深く、学位に値すると考えられる。