



Title	Adiponectin regulates vascular endothelial growth factor-C expression in macrophages via Syk-ERK pathway
Author(s)	胡, 迪
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59765">https://hdl.handle.net/11094/59765</a>
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">大阪大学の博士論文について</a>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	胡 達
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学 位 記 番 号	第 25925 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Adiponectin regulates vascular endothelial growth factor-C expression in macrophages via Syk-ERK pathway. (マクロファージにおいてアディポネクチンが Syk 経路依存的な ERK の活性化を介してリンパ管新生因子の発現を抑制する。)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 下村 伊一郎 (副査) 教 授 竹原 徹郎 教 授 熊ノ郷 淳

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔目 的(Purpose)〕

アディポネクチン (APN) は脂肪細胞から分泌される善玉アディポサイトカインであり、抗糖尿病作用や抗高血圧作用、抗動脈硬化作用など多面的な効果を示す。これまでに、肝臓や骨格筋における糖代謝改善作用のメカニズムは多くの研究によって解明され、抗糖尿病作用、抗動脈硬化作用のメカニズムも解明されつつあるが、抗高血圧作用の詳細なメカニズムは不明である。

最近、皮下組織におけるリンパ管新生が食塩感受性高血圧の発症機序に関与することが報告された。食塩負荷により皮下組織中のリンパ管新生が亢進され、皮下の余剰塩分を排出し、体内への過剰な水分蓄積を抑えることで高血圧を回避するという機序が提示された。高血圧を回避するためのリンパ管新生にはマクロファージからのリンパ管新生因子の分泌が必要であることも示された。そこで、我々はマクロファージに注目し、APNのリンパ管新生への関与、さらに高血圧抑制効果の機序について検討を行った。

## 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

健常人の末梢血から単球を分離、7日間培養しマクロファージに分化させた。このマクロファージにパキロウイルス由来組換えヒトAPN蛋白質10ug/mlを添加し、6時間後の肥満や炎症の病態に関連する因子の遺伝子発現量をReal time-PCR法にて測定した。既報の通り、APNの添加により、COX-2やTIMP-1などの遺伝子発現量は増加し、SRA1遺伝子発現量は低下した。さらに、APNはリンパ管新生因子の遺伝子VEGF-C (Vascular endothelial growth factor-C) 発現を増加させることを見出した。マウスマクロファージRAW264.7細胞においてもAPN添加によるVEGF-Cの発現上昇が確認できた。さらにELISA法を用いて、24時間後の培養上清中のVEGF-C濃度が有意に上昇したことが確認できた。

次にAPNのこの因子の発現を制御するシグナル経路について検討を行った。既知のAPNのシグナル経路であるAMP-activated protein kinaseやPeroxisome proliferator-activated receptor alpha経路の活性化剤と阻害剤実験では、VEGF-Cの遺伝子発現の変化が見られなかった。すなわち、既報とは異なる経路を介する可能性が示された。

細胞質キナーゼsykノックアウトマウスはリンパ管形成不全により胎生致死からsykはリンパ管新生に重要な因子と報告された。一方、血小板においてgAPN蛋白は細胞質キナーゼsykを介して血小板凝集に制御することが報告された。そこで、APNによるリンパ管新生因子VEGF-C発現上昇にはsykを介する可能性を検討した。APN蛋白15分間添加によってsykのチロシンリン酸化が誘導された。そして、2種類のsyk特異的阻害剤を用いた実験では、APNによるVEGF-Cの遺伝子発現上昇は阻害剤によってキャンセルされた。さらに、APN添加によってリン酸化されたERK1/2はsyk阻害剤で抑制され、ERK1/2阻害剤実験ではAPNによるVEGF-Cの発現上昇を抑制したことが明らかとなった。従って、APNはsyk依存的なERK1/2リン酸化を介してVEGF-Cの発現を制御することを見出した。

#### 〔総括(Conclusion)〕

マクロファージにおいて、APNは細胞質キナーゼsyk依存的なERK活性化を介してリンパ管新生因子の発現を制御することにより、抗高血圧作用を果たす可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

アディポネクチン(APN)は脂肪細胞から特異的に分泌されるアディポサイトカインであり、肝臓や骨格筋、マクロファージに作用して様々な生理活性を示す。肝臓と骨格筋におけるAPNのシグナル経路は解明されているが、マクロファージにおけるシグナル経路は不明である。また、APNは多彩な生理作用を示すことから、マクロファージにおける新たな標的因子を同定することは重要である。

申請者は、APNの新規標的因子としてリンパ管新生因子VEGF-C (Vascular endothelial growth factor-C) に着目し、APNのVEGF-Cに対する作用並びにシグナル経路の解析を行った。その結果、ヒトおよびマウスマクロファージでは、APNによってVEGF-Cの遺伝子発現量および培養上清中のVEGF-Cタンパク量が増加することを見出した。シグナル解析の結果、肝臓や骨格筋のAPNシグナル経路であるAMPKとPPAR  $\alpha$ 経路がVEGF-Cの発現誘導に関与しないこと、APNがチロシンキナーゼsyk依存的なERKリン酸化を介してVEGF-Cの発現を制御することを見出した。

本研究内容から、APNがリンパ管新生を制御することによって様々な病態に関与する可能性が初めて示されている。したがって、本研究は新規性が高く重要であることから、学位の授与に値すると考える。