主論文の要旨

Omentin attenuates atherosclerotic lesion formation in apolipoprotein E-deficient mice

（アポE欠損マウスにおけるヒトオメンチン過剰発現状態は
動脈硬化巣の形成を抑制する）

名古屋大学大学院医学系研究科　分子総合医学専攻
病態内科学講座　循環器内科学分野
（指導：室原 豊明　教授）
伊藤 瑞穂

【背景】

肥満は内臓脂肪の蓄積により、動脈硬化を促進させる。内臓脂肪の蓄積により引き起こされるアディポカインの産生異常が、動脈硬化疾患の発症へとつながることが明らかとなってきている。アディポカインとは脂肪組織より分泌される生理活性物質であり、肥満関連疾患に対して有害な働きを持つ物と保護的に働く物とある。

オメンチンは肥満によって発現が低下するアディポカインであり、ヒトにおいては脂肪組織に多く発現し、中でも主に内臓脂肪組織に発現している。これまでに、動脈硬化関連疾患において血清オメンチン濃度が低下するという報告があるが、動脈硬化の進展におけるオメンチンの効果とそのメカニズムについて検討した。

【結果】

<u>オメンチンの apoE-KO マウスにおける動脈硬化形成抑制効果(Fig1)</u>

ap2 プロモーターを用いてヒトオメンチンが脂肪で過剰産生するトランスジェニックマウス（以下、OMT-Tg マウス）を作成し、動脈硬化モデルであるアポリポ蛋白 E 欠損マウス（以下、apoE-KO マウス）と交配させ、アポリポ蛋白 E 欠損オメンチントランスジェニックマウス（以下、apoE-KO/OMT-Tg マウス）を作成した。この apoE-KO/OMT-Tg の血中オメンチン濃度は約 1400ng/ml と健常成人男性の約３倍と高値を示しているが、総コレステロール、VLDL コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロールを含めたリピッドパラメーターは apoE-KO マウスと有意な差を認めなかった。オメンチン過剰産生状態は、22 週齢のアポ E 欠損マウスの動脈硬化巣の形成を抑制した。また、アデノウイルス発現系を用いて 20 週齢の apoE-KO マウスにオメンチンを全身投与してその血中濃度を上昇させたところ、動脈硬化の進展は抑制された。さらに、動脈硬化巣にマクロファージとほぼ一致してオメンチンの集積を認めた。

<u>オメンチンのヒト単球由来マクロファージに対する泡沫化抑制効果(Fig2)</u>

ヒト末梢血より単球を採取して 4 日間培養した後、生理的濃度のオメンチンを作用させたところ、ヒトマクロファージの泡沫化を抑制した。同様に、オメンチン添加により、ヒト単球由来マクロファージのコレステリルエステル含有量は減少し、脂質取り込みに重要な働きをするスカベンジャー受容体である SRA、CD36 の発現も減少した。

<u>オメンチンの動脈硬化巣における炎症反応抑制効果(Fig3)</u>

22 週齢のオメンチン過剰産生マウスは動脈硬化巣におけるマクロファージの発現が抑制され、大動脈における炎症関連遺伝子 TNF-α, IL-6, MCP-1, VCAM-1, ICAM-1 の発現も減弱された。

<u>オメンチンのヒトマクロファージに対する Akt を介した炎症反応抑制効果(Fig4)</u>

ヒト単球由来マクロファージに生理的濃度のオメンチンを作用させた後、LPS を添加すると、LPS によって誘導された炎症性サイトカインの発現が抑制され、NF-κB のリン酸化も減少された。

ヒトマクロファージに対する抗炎症効果に Akt や AMPK が関与していると報告されているため、ヒトマクロファージにオメンチンを添加し、Akt のリン酸化をウェスタンブロッティング法で検討したところ 15 分をピークに Akt, AMPK のリン酸化が亢進していた。

次に Akt の上流シグナルである PI3k の阻害剤である LY294002 を前処置させたところ、LPS で誘導された炎症性サイトカインの発現に対するオメンチンの抑制効果は解除された。一方 AMPK の阻害剤である Compound C の前処置では同様の結果は得られなかった。そこで、Akt の特異的阻害剤であるドミナントネガティヴミュータントフォーム型 Akt を過剰発現させた所、オメンチン添加によってリン酸化が亢進した Akt の下流シグナルである GSK のリン酸化の減弱を認め、さらに LPS で誘導された炎症性サイトカインに対するオメンチンの抑制効果は解除された。

オメンチンの動脈硬化巣における抗アポトーシス効果(Fig5)

オメンチンは apoE-KO マウスの動脈硬化巣におけるアポトーシスと、酸化 LDL で誘導されたヒト単球由来マクロファージのアポトーシスを抑制した。

【考察】

今回我々は、オメンチンが抗炎症効果を介して動脈硬化を抑制しうるアディポカインであることを報告した。また、オメンチンが炎症反応を抑制する機序として、PI3-Akt シグナルを介している事を明らかにした。

肥満や、メタボリックシンドロームなどによって引き起こされる動脈硬化においては、マクロファージや血管内皮の状態は重要な役割を果たしている。我々の in vivo の検討においては、オメンチンが血清脂質値に影響を与えることなく、動脈硬化巣の形成、マクロファージの侵入、アポトーシス、炎症性サイトカインの発現を抑制した。また、in vitro の検討では、ヒトマクロファージの、泡沫化、コレステリルエステル含有量、アポトーシス、炎症性サイトカインの発現、LPS 刺激で誘導された NF-κB のリン酸化を抑制した。これらの事より、オメンチンが動脈硬化巣におけるマクロファージと血管内皮細胞の炎症反応を直接抑制していることが示唆された。

PI3-Akt シグナルはマクロファージの炎症反応抑制に関与していると報告されている。オメンチンは、ヒトマクロファージにおいて Akt を介して抗炎症効果を示し、Akt の阻害剤でその効果が解除された。これらより、オメンチンは Akt を介してマクロファージの炎症反応を抑制することで動脈硬化の形成を制御していることが示唆された。

aP2 プロモーターは脂肪組織だけでなく、マクロファージにも発現すると報告されているため、今回の検討においてマクロファージ由来のオメンチンの効果については否定できない。しかし、apoE-KO マウスにおけるアデノウイルス発現系を用いた検討においても、オメンチンの動脈硬化抑制効果はみとめられた。

オメンチンは種々の細胞において AMPK を活性化していると報告されている。我々の検討においてもヒトマクロファージで AMPK のリン酸化は亢進したものの、オメンチンのマクロファージに対する抗炎症効果は AMPK とは独立している可能性が示

唆された。その理由に関しては現状ではまだ明らかではなく、今後の検討課題である。これまでにアディポネクチンも動脈硬化抑制作用、マクロファージの抗炎症効果が報告されている。しかし、アディポネクチンのマクロファージの抗炎症効果は PPAR-α, AMPK, Akt などの複数の経路を介したものであり、オメンチンとはその機序が異なるものと考える。よって、アディポネクチンとオメンチンのマクロファージに対する効果の類似点、相違点などはさらなる研究を要すると考える。

【結論】

脂肪組織由来のオメンチンは動脈硬化組織におけるマクロファージの炎症反応を減少させることにより動脈硬化の進展を抑制する。オメンチンは動脈硬化治療の標的物質となる可能性が示唆された。