

主論文の要旨

Adipolin/CTRP12 protects against pathological vascular remodeling through suppression of smooth muscle cell growth and macrophage inflammatory response

アディポリン/CTRP12 は血管平滑筋細胞の増殖とマクロファージの炎症性応答を抑制し、血管の病的リモデリングに防御的に働く

名古屋大学大学院医学系研究科 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)

小川 隼人

【背景】

心血管病は現代の主要な死因の一つである。動脈硬化や冠動脈ステント留置後の再狭窄などの血管病において、血管平滑筋細胞の増殖やマクロファージの炎症性応答が引き起こす病的血管リモデリングは重要なステップである。したがって、それらの細胞応答を抑制する因子は血管病の新たな治療法の手がかりとなる可能性がある。

脂肪組織はアディポサイトカインと呼ばれる様々な生理活性物質を分泌することが知られている。TNF α やIL-6など多くのアディポサイトカインは炎症惹起性であり、肥満関連疾患を増悪する。対照的に、アディポネクチンのように抗炎症性であり、肥満関連疾患に対して防御的に働くアディポサイトカインも報告されている。

Clq/TNF-related protein (CTRP) 12/アディポリンは新規のアディポサイトカインである。我々はアディポリンの全身投与が肥満マウスの脂肪組織の炎症を抑制し、インスリン抵抗性を改善することを報告した。しかし、アディポリンの心血管病における役割は明らかではない。本研究では、アディポリンが病的血管リモデリングに与える影響とそのメカニズムについて、マウスモデル、細胞実験を用いて解析した。

【方法】

アディポリン遺伝子のエクソン 1-4 をネオマイシン耐性遺伝子と置換し、アディポリン欠損マウスを作製した。8-12 週齢のアディポリン欠損マウスと野生型マウスの大腿動脈にワイヤーを挿入し、内膜擦過による血管傷害手術をおこなった。手術後の大腿動脈において組織学的解析、遺伝子発現解析、タンパク発現解析をおこなった。

HEK293 細胞の培養上清より精製したアディポリンタンパクを用いて細胞実験を行った。マウス腹腔マクロファージの炎症性応答、ヒト臍帯静脈内皮細胞の遊走能とアポトーシス、ヒト大動脈血管平滑筋細胞の細胞増殖に対するアディポリンの作用とそのメカニズムを検討した。

【結果】

アディポリンの血管病における役割を調べるため、アディポリン欠損マウスと野生型マウスに血管傷害手術をおこなった。アディポリン欠損マウスでは野生型マウスと比較し、傷害後の内膜中膜面積比の増大を認め、新生内膜肥厚が促進された (Fig. 1A)。アディポリン欠損マウスの傷害後血管壁では野生型マウスと比較し、TNF α 、IL-6、MCP-1 などの炎症性メディエーターの発現が増加しており (Fig. 1D)、血管平滑筋細胞の増殖が亢進していた (Fig. 4A)。加えて、アディポリン欠損マウスは、野生型マウスと比較し、傷害後血管の再内皮化障害を認めた (Fig. 2A)。さらに、アデノウイルスベクターを用いてアディポリンの血中濃度を約 2 倍に上昇すると、傷害後血管壁における炎症性メディエーターの発現は抑制され、新生内膜肥厚も抑制された (Fig. 1G, E)。アディポリンの欠損もしくは過剰発現による血中インスリン濃度、血糖値の変化は認めなかった。

続いて、アディポリンの作用を細胞レベルで解析するため、病的血管リモデリング

の過程で重要である血管内皮細胞、マクロファージ、血管平滑筋細胞に注目した。

ヒト臍帯静脈血管内皮細胞にアディポリタンパクを添加すると、トランスウェル法で評価した遊走能は促進され、また低血清負荷によるアポトーシスは抑制された (Fig. 2B, C)。マウス腹腔マクロファージにアディポリタンパクを添加すると、LPS 刺激による炎症性メディエーターの発現増加は抑制された (Fig. 3A)。さらに、ヒト大動脈血管平滑筋細胞にアディポリタンパクを添加すると、血小板由来増殖因子刺激による細胞増殖が抑制された (Fig 4B)。アディポリンの添加はマクロファージ、血管平滑筋細胞において Smad2 のリン酸化を促進した (Fig. 3C, 4C)。シグナル阻害薬、もしくは siRNA による TGF β 受容体 II 型/Smad2 シグナル経路の遮断により、アディポリンの抗炎症作用、血管平滑筋細胞増殖抑制効果は消失した (Fig. 3D, 3E, 4D, 5B)。したがって、アディポリンは TGF β 受容体 II 型/Smad2 シグナル経路を介して、マクロファージの炎症性応答、血管平滑筋細胞の増殖を抑制していると考えられた。

さらに、アディポリンが TGF β の発現や分泌に及ぼす影響について検討した。マクロファージ、血管平滑筋細胞にアディポリタンパクを添加したところ、細胞内での TGF β の mRNA 量は変化せず、培養溶液中の TGF β のタンパク濃度が上昇した (Fig. 6A, B)。アディポリン欠損マウスでは野生型マウスと比較し、傷害後血管壁における TGF β のタンパク量が低値であった (Fig. 6C)。またアデノウイルスベクターによりアディポリン血中濃度を上昇させると、障害血管における TGF β のタンパク量はコントロールマウスと比較し、有意に高値であった (Fig. 6D)。以上のことから、アディポリンは TGF β の分泌を促進することで、マクロファージの炎症性応答、血管平滑筋細胞の増殖を抑制していると考えられた。

【考察】

本研究の結果、アディポリンが、血管病に対して保護的に働いていることが示された。アディポリン欠損マウスでは、野生型マウスと比較して血管傷害後の新生内膜肥厚が増大した。一方、アディポリンの血中濃度上昇により、血管傷害後の新生内膜肥厚は抑制された。細胞実験の結果、アディポリタンパクを添加すると、マクロファージの炎症性応答、血管平滑筋細胞の増殖が抑制された。これらの結果から、アディポリンはマクロファージ、血管平滑筋細胞に作用し、血管の病的リモデリングを抑制していると考えられた。したがってアディポリンの血中濃度の低下は、血管病の発症や進展に寄与している可能性がある。

以前に、私たちはアディポリンの血中濃度上昇によって、食事性肥満マウスのインスリン抵抗性が改善することを示した。本研究の結果、通常食飼育の条件下ではアディポリンの欠損、もしくは過剰発現は血管傷害術後のマウスの血糖値、血中インスリン濃度に影響を与えなかった。このことから、アディポリンはインスリン感受性の変化を介さず、病的血管リモデリングを抑制すると考えられる。

アディポリンはアディポネクチンパラログである CTRP ファミリーに属する。本研究ではアディポリンが、アディポネクチンと同様にマクロファージの炎症性応答と血

管平滑筋細胞の増殖を抑制し、血管病に保護的に働いていることを示した。アディポネクチンの作用は AMPK シグナル経路の活性化を介していると言われている。一方、アディポリンは AMPK シグナル経路を活性化せず、TGF β /TGF β 受容体 II 型/Smad2 シグナル経路を介して、マクロファージと血管平滑筋細胞に作用している。したがって、アディポリンはアディポネクチンと機能的に類似しているが、作用に関わる細胞内シグナル経路は大きく異なっており、血管病治療の新たな標的になりうると考えられる。

【結語】

アディポリンは抗炎症性アディポサイトカインであり、病的血管リモデリングを抑制する作用を持つ。アディポリンの血中濃度を上昇させることは、血管病の予防と治療において有用なアプローチになる可能性がある。