

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790908

研究課題名(和文) アディポネクチン受容体の抗動脈硬化作用メカニズムの解明

研究課題名(英文) Pathophysiological Roles of AdipoR1/AdipoR2 in the Prevention of Atherosclerosis

研究代表者

岩部 美紀 (IWABU, Miki)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：70392529

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：わが国で死因の上位を占める心血管疾患の主要な原因であるメタボリックシンドローム・2型糖尿病は、激増しており、その主因が肥満に伴うアディポネクチン/アディポネクチン受容体(AdipoR)シグナルの作用低下であることを明らかにしてきた。一方で、アディポネクチンは血管において抗動脈硬化作用を有するが、その作用におけるAdipoRの意義及びその詳細なメカニズムについては、明らかとなっていない。本研究課題では、動脈硬化発症に重要な組織である血管内皮およびマクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoRの細胞内シグナルを明らかにし、AdipoRの抗動脈硬化作用メカニズムを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The adipocyte-derived hormone adiponectin has been proposed to play the central roles as antidiabetic and antiatherogenic adipokine. However, whether adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 have the protective roles against atherosclerosis in vivo are still undetermined. Therefore, in this study we investigated the in vivo roles of AdipoR1 and AdipoR2 on atherosclerosis using conventional or tissue-specific AdipoR1 and/or AdipoR2 knockout or transgenic mice as well as transplantation of bone marrow from AdipoR knockout mice. This study provides the direct evidence that AdipoR2 in endothelial cells and AdipoR1 in macrophages play protective roles against atherosclerosis in vivo.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：アディポネクチン アディポネクチン受容体 動脈硬化 マクロファージ 血管

1. 研究開始当初の背景

わが国の死因の上位を占める心血管疾患(心筋梗塞・脳梗塞など)の主要な原因は、エネルギー収支バランスの崩れによる肥満を基盤として、耐糖能障害・脂質代謝異常・高血圧が一個人に重積する、いわゆるメタボリックシンドロームと考えられる。

当研究室では、肥満(脂肪細胞の肥大化)に伴って、脂肪細胞から分泌される生理活性物質アディポネクチンが低下することが、メタボリックシンドローム・2型糖尿病、さらには動脈硬化の主因になっていること、一方でこのアディポネクチンを補充することがこれら病態の治療法になり得ることを研究成果として示してきた(Nat. Med. 7: 941, 2001; Nat. Med. 8: 1288, 2002; J. Biol. Chem. 278: 2461, 2003)。さらに培養細胞を用いて、アディポネクチン受容体(AdipoR1・AdipoR2)を世界で初めて同定した(Nature 423: 762, 2003)。これら一連の研究に引き続き、我々はAdipoR1・AdipoR2が個体レベルにおいてアディポネクチンの結合・作用に必須の受容体であることを証明し、インスリン感受性、糖・脂質・エネルギー代謝、炎症や酸化ストレスの制御において生理的に重要な役割を果たすことを示した(Nat. Med. 13: 332, 2007)。さらに、骨格筋特異的 AdipoR1 欠損マウスの解析により、骨格筋におけるアディポネクチン/AdipoR1 経路は、“細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇させること”と“AMP キナーゼ (AMPK) /長寿遺伝子 SIRT1 の活性化”の両方をもたらすことを発見し、前者が PGC-1 の発現上昇に、後者が PGC-1 の活性化に重要な役割を果たしていることを報告した(Nature 464: 1313, 2010)。このようにアディポネクチン/AdipoR は代謝に重要な各組織において、組織ごとに特異性のあるシグナルによって、生活習慣病に対する防御システムを担っていることが明らかになりつつある。

一方で、アディポネクチンは血管において抗動脈硬化作用を有するが、その作用における AdipoR の意義およびその詳細なメカニズムについては、明らかとなっていない。本研究課題では、動脈硬化発症に重要な組織である血管内皮およびマクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoR の細胞内シグナルを明らかにし、抗動脈硬化作用メカニズムの解明を目的とした。

2. 研究の目的

わが国で死因の上位を占める心血管疾患の主要な原因であるメタボリックシンドローム・2型糖尿病は、激増しており、その主因が肥満に伴うアディポネクチン/アディポネクチン受容体(AdipoR)シグナルの作用低下であることを明らかにしてきた(Nat. Med. 13: 332, 2007)。一方で、アディポネクチンは血管において抗動脈硬化作用を有するが、その作用における受容体(AdipoR)の意義及びその詳細なメカニズムについて

は、明らかとなっていない。本研究課題では、動脈硬化発症に重要な組織である血管内皮およびマクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoR の細胞内シグナルを明らかにし、抗動脈硬化作用メカニズムの解明を目的とし、(1)血管内皮におけるアディポネクチン/AdipoR2 の抗動脈硬化作用メカニズムの解明、(2)マクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoR1 の抗動脈硬化作用メカニズムの解明を達成する。

3. 研究の方法

(1)血管内皮におけるアディポネクチン/AdipoR2 の抗動脈硬化作用メカニズムの解明

血管内皮特異的 AdipoR2 欠損マウスを用いて、カフ障害に対する内膜肥厚を評価する系で血管内皮における AdipoR2 の抗動脈硬化作用を検討し、血管内皮局所の AdipoR2 の病態生理的意義(抗動脈硬化作用)を検討した。また、動脈硬化治療法の開発にむけて、血管内皮特異的 AdipoR2 過剰発現マウスを用いて、動脈硬化改善効果も検討した。さらに、血管内皮における抗動脈硬化作用メカニズムを明らかにするために、免疫染色(MCP-1、CCR2、ICAM-1、BrdU)や血管内皮局所の遺伝子発現を解析するために最新のレーザーキャプチャー法を用いて、これらマウスの遺伝子解析を行った。さらに、新たに作製した血管内皮特異的 PPAR 欠損マウスを用いアディポネクチン/AdipoR2 経路の PPAR 依存的あるいは非依存的シグナルについて解明を行った。

(2)マクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoR1 の抗動脈硬化作用メカニズムの解明

各種肥満・2型糖尿病モデルマウスのマクロファージにおける AdipoR1 の発現変化を検討した。また、マクロファージにおける AdipoR1 の抗動脈硬化作用メカニズムを明らかにするために、免疫染色(MCP-1、CCR2、ICAM-1、BrdU)や血管内皮局所の遺伝子発現を最新のレーザーキャプチャー法を用いて解析した。さらに、マクロファージにおける AdipoR1 の全身での糖・脂質代謝に与える影響を検討するために、AdipoR1 欠損マウスの骨髄を移植したマウスを用いて、耐糖能障害、インスリン抵抗性、糖新生の評価を糖負荷試験、インスリン感受性試験、ピルビン酸負荷試験、グルコースクランプ試験で解析した。さらに、マクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoR1 シグナルの鍵分子を探索し、PPAR 依存的あるいは非依存的マクロファージの分化調節メカニズムについて解析を行った。

4. 研究成果

(1)血管内皮におけるアディポネクチン/AdipoR2 の抗動脈硬化作用メカニズムの解明

血管内皮特異的 AdipoR2 欠損マウスを用いて、カフ障害に対する内膜肥厚を評価する系で血管内皮における AdipoR2 の抗動脈硬化作用

を有することを示した（未発表データ）。さらに血管内皮局所の AdipoR2 の病態生理的意義（抗動脈硬化作用）、血管内皮における抗動脈硬化作用メカニズムを明らかにするために、血管内皮局所の遺伝子発現を解析した。また、動脈硬化治療法の開発にむけて、新たに作製した血管内皮特異的 AdipoR2 過剰発現マウスを用いて、動脈硬化改善効果も検討した結果、カフ障害に対する内膜肥厚が改善することを見いだした（未発表データ）。

さらに、新たに作製した血管内皮特異的 PPAR 欠損マウスを用いアディポネクチン/AdipoR2 経路の PPAR 依存性あるいは非依存性シグナルについて解明を行った。血管内皮特異的 AdipoR2 過剰発現マウスについて、全身での糖・脂質代謝を解析し、動脈硬化に与える影響、及び各組織における遺伝子発現などを解析した（未発表データ）。

(2)マクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoR1 の抗動脈硬化作用メカニズムの解明

各種肥満・2型糖尿病モデルマウスのマクロファージにおける AdipoR1 の発現変化を検討し、また、マクロファージにおける AdipoR1 の抗動脈硬化作用メカニズムを明らかにするためにマクロファージにおける炎症や酸化ストレスなどに関連する遺伝子発現を検討した。また、AdipoR1 の全身での糖・脂質代謝に与える影響を検討するために、AdipoR1 欠損マウス及び、AdipoR1 欠損マウスの骨髄を移植したマウスを用いて、耐糖能障害、インスリン抵抗性、糖新生の評価を糖負荷試験、インスリン感受性試験、ピルビン酸負荷試験、グルコースクランプ試験で解析した。

さらに、マクロファージにおけるアディポネクチン/AdipoR1 シグナルの鍵分子の探索を試み、PPAR 依存性あるいは非依存性マクロファージの分化調節メカニズムについて解析を行った。以上、解析の結果、マクロファージにおける AdipoR1 が動脈硬化のみならず、全身への糖・脂質代謝にも影響を与え、抗動脈硬化作用に重要な役割を果たしていることを明らかにした（未発表データ）。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計6件)

Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kadowaki T. Adiponectin receptors: A review of their structure, function and how they work. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.** 査読有 1, 15-23, 2014,

DOI:10/1016/j.beem.2013.09.003.

Kadowaki T, Yamauchi T, Okada-Iwabu M and Iwabu M. Adiponectin and its receptors: Implications for reduction of obesity-associated diseases and prolongation of

longevity. **The Lancet Diabetes and Endocrinology.** 査読有 2, 8-9, 2014, DOI:10.1016/S2213-8587(13)70120-7. Okada-Iwabu M, Yamauchi T, Iwabu M, Honma T, Hamagami K, Matsuda K, Yamaguchi M, Tanabe H, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Ogata H, Tokuyama K, Ueki K, Nagano T, Tanaka A, Yokoyama S and Kadowaki T. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. **Nature** 査読有 503, 493-498, 2013, DOI:10.1038/nature12656.

Nio Y, Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Funata M, Yamaguchi M, Ueki K, Kadowaki T. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) deficiency enhances alternatively activated M2 macrophages and ameliorates insulin resistance and fatty liver in lipotrophic diabetic A-ZIP transgenic mice. **Diabetologia.** 査読有 255, 3350-3358, 2012, DOI:10.1007/s00125-012-2710-2.

Yamauchi N, Takazawa Y, Maeda D, Hibiya T, Tanaka M, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Yamauchi T, Kadowaki T, Fukayama M. Expression Levels of Adiponectin Receptors are Decreased in Human Endometrial Adenocarcinoma Tissues. **Int J Gynecol Pathol.** 31, 352-357, 2012, DOI:10.1097/PGP.0b013e3182469583.

Imamura M, Maeda S, Yamauchi T, Hara K, Yasuda K, Morizono T, Takahashi A, Horikoshi M, Nakamura M, Fujita H, Tsunoda T, Kubo M, Watada H, Maegawa H, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Shojima N, Ohshige T, Omori S, Iwata M, Hirose H, Kaku K, Ito C, Tanaka Y, Tobe K, Kashiwagi A, Kawamori R, Kasuga M, Kamatani N; Diabetes Genetics Replication and Meta-analysis (DIAGRAM) Consortium, Nakamura Y and Kadowaki T. A single nucleotide polymorphism in ANK1 is associated with susceptibility to type 2 diabetes in Japanese populations. **Hum Mol Genet.** 査読有 21, 3042-2049. 2012, DOI:10.1093/hmg/dds113.

〔学会発表〕(計15件)

岩部 美紀, 山内 敏正, 岩部 真人, 門脇 孝「アディポネクチン受容体をターゲットにした糖尿病治療薬開発の試み」第28回 日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会(2014年2月14日 宮崎)

岩部 美紀「アディポネクチン受容体をターゲットにした糖尿病治療薬開発の試み」第3回 Metabolism Scientific

Forum (2013年12月21日 東京)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、窪田 直人、門脇 孝「アディポネクチン経路の動脈硬化における生理的・病態生理的意義の解明」第34回 日本肥満学会 (2013年10月12日 東京)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝「動脈硬化におけるアディポネクチン/アディポネクチン受容体の役割」第21回 日本血管生物医学会学術集会 (2013年9月28日 大阪)
岩部 美紀「アディポネクチン受容体をターゲットにした健康長寿薬開発の試み」第18回 アディポサイエンスシンポジウム (2012年8月24日 大阪)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝「アディポネクチン受容体をターゲットにした糖尿病治療薬開発の試み」第12回 生体機能研究会 (2013年7月27日 群馬)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝「アディポネクチン受容体をターゲットにした糖尿病治療薬開発の試み」第31回 内分泌代謝学サマーセミナー (2013年7月12日 大分)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、窪田 直人、門脇 孝「アディポネクチン経路の動脈硬化における病態生理的意義の解明と治療への応用の可能性」第31回 日本肥満症治療学会学術集会 (2013年6月28日 東京)
MIKI OKADA-IWABU, TOSHIMASA YAMAUCHI, MASATO IWABU, TETSUYA KUBOTA, NAOTO KUBOTA, TAKASHI KADOWAKI 「AdipoR1 in Hematopoietic Cells via Anti-Inflammation and AdipoR2 in Endothelial Cells via PPARgamma/SOD Play the Protective Roles against Cardiovascular Diseases in vivo」 American Diabetes Association, 73th Scientific Sessions (2013年6月23日 Chicago, IL, USA)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝「アディポネクチン受容体活性化経路の糖尿病治療薬開発への応用」第86回 日本内分泌学会学術集会 (2013年4月25日 仙台)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝「アディポネクチン受容体活性化経路の糖尿病治療への応用」第56回 日本糖尿病学会年次学術集会 (2013年5月18日 熊本)
岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、窪田 直人、門脇 孝「アディポネクチン経路の動脈硬化における生理的・病態生理的意義の解明」第33回 日本肥満学会 (2012年10月11日 京都)
MIKI OKADA-IWABU, TOSHIMASA YAMAUCHI, MASATO IWABU, TETSUYA KUBOTA, NAOTO KUBOTA, KOHJIRO UEKI, TAKASHI

KADOWAKI 「AdipoR1 in Macrophages and AdipoR2 in Endothelial Cells via PPARgamma/SOD Play the Protective Roles against Atherosclerosis In Vivo」 American Diabetes Association, 72th Scientific Sessions (2012年6月10日 Philadelphia, PA, USA)

岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、窪田 直人、門脇 孝「アディポネクチン経路の動脈硬化における生理的・病態生理的意義の解明」第55回 日本糖尿病学会年次学術集会 (2012年5月17日 横浜)

岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、窪田 直人、門脇 孝「アディポネクチン受容体の動脈硬化における病態生理的意義の解明」第85回 日本内分泌学会学術集会 (2012年4月21日 名古屋)

〔図書〕(計5件)

岩部 美紀、山内 敏正、門脇 孝
(有)科学評論社・内分泌・糖尿病・代謝内科・【機能性食品と健康長寿】 トマト・ナスに含まれるオスモチンのメタボリックシンドローム・糖尿病に対する作用 36巻4号 Page299-302, 2013

岩部 美紀、山内 敏正、門脇 孝
(有)医学の世界社・ホルモンと臨床・【栄養素摂取と生活習慣病】 最近の話題から オスモチンと糖代謝 59巻8号 Page751-754, 2011

岩部 美紀、山内 敏正、門脇 孝
(株)日本臨床社・日本臨床・分子標的薬【分子標的薬-がんから他疾患までの治療をめざして-】基礎研究 疾患領域別分子標的薬の基礎研究 メタボリックシンドローム・肥満の分子標的薬研究 70巻増刊8 Page372-377, 2012

岩部 美紀、山内 敏正、門脇 孝
(株)医学出版・月刊糖尿病・【糖尿病合併症の成因と薬物療法】 合併症の成因を標的とした薬物療法の開発 アディポネクチン受容体アゴニスト 4巻8号 Page124-129, 2012

岩部 美紀、山内 敏正、門脇 孝
(株)日本臨床社・日本臨床・最新臨床糖尿病学(上)【最新臨床糖尿病学 上-糖尿病学の最新動向-】糖尿病の予防・管理・治療 糖尿病薬物療法 糖尿病治療薬 薬理作用・適応・副作用など 新規糖尿病治療薬開発の現状と今後の展開 食品機能性成分 オスモチン 70巻増刊3 Page746-749, 2012

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩部 美紀 (IWABU, Miki)
東京大学・医学部附属病院・特任助教
研究者番号：70392529