

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792328

研究課題名(和文)Valsartanが代謝性内毒素誘導性インスリン抵抗性を改善する分子機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of amelioration mechanisms of metabolic endotoxemia induced insulin resistance by valsartan

研究代表者

岩下 未咲(Iwashita, Misaki)

広島大学・医歯薬保健学研究院(歯)・助教

研究者番号：80611326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：マクロファージと共培養した脂肪細胞における遺伝子群の網羅的な解析から、リポ多糖(LPS)刺激によって、Nuclear factor-kappa B、Thyroid hormone receptor、Activator protein 1の下流にある遺伝子群が大きく影響を受け、アンジオテンシンII受容体拮抗薬valsartan添加によってこれらの変化が回復することが認められた。また、マウスにvalsartanを服用させLPS誘導性炎症に対する影響を検討した結果、脂肪組織および肝臓においてvalsartanによるLPS誘導性の炎症性サイトカイン遺伝子発現抑制が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the gene expression profile of adipocytes co-cultured with lipopolysaccharide (LPS)-treated macrophages in the presence or absence of the angiotensin receptor 1 blocker valsartan. The genes of which expressions were affected by LPS-treated macrophages but normalized by co-addition of valsartan. Additionally, we analyzed the in vivo effects of valsartan, using mice constitutively infused with LPS. Oral administration of valsartan to LPS-infused mice normalized the increased expressions of inflammatory cytokines in adipose and liver tissues. In light of these data, it is reasonable to consider valsartan to normalize altered gene expression patterns in adipose tissue infiltrated by macrophages, and to ameliorate inflammation. These results raise the possibility that valsartan not only contributes to normalization of obesity-related insulin resistance, but is also beneficial for the treatment of other diseases with inflammation related to the metabolic syndrome.

研究分野：歯周治療系歯学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：脂肪細胞 マクロファージ インスリン抵抗性 アンジオテンシンII受容体拮抗薬

1. 研究開始当初の背景

生活習慣の欧米化に伴い蔓延する歯周病や肥満は、リポ多糖 (LPS) などの代謝性内毒素の血中流入を介してインスリン抵抗性を誘導し、2 型糖尿病の危険因子となる。近年、インスリン抵抗性改善作用を示す薬剤として、降圧剤であるアンジオテンシン II 受容体 (AT1) 拮抗薬 (ARB) が注目されている。申請者はこれまでに、独自に開発した共培養細胞系において、ARB の一種である valsartan が LPS により活性化したマクロファージに誘導される脂肪細胞のインスリン抵抗性を改善することを証明し、この過程で valsartan が AT1 とは異なる標的分子に作用してインスリン抵抗性改善作用を発揮することを見出した (Iwashita M *et al.*, *Am J Physiol*, 2011)。

2. 研究の目的

Valsartan の新規標的分子の同定により、valsartan が代謝性内毒素誘導性インスリン抵抗性を改善する分子機序の解明をめざす。

3. 研究の方法

Valsartan が影響を及ぼす遺伝子群について網羅的に解析するため、LPS 刺激下において 3T3-L1 脂肪細胞と RAW264.7 細胞を共培養し脂肪細胞の遺伝子発現について継時的検討を行った。また、*in vitro*において確認されている valsartan の炎症抑制作用が *in vivo*において同様にみられるかどうかについてマウスを用いて検討した。6 週令のマウスを LPS 刺激有・無、valsartan 服用有・無の計 4 群に分け、持続的に生理食塩水または一定濃度の LPS 溶液を持続注入させるポンプをマウス腹腔に埋入し、valsartan (40mg/kg/day) 含有あるいは不含の水を服用させた。4 週間後、肝臓および脂肪組織の炎症性サイトカイン遺伝子発現の変化から、LPS 誘導性の炎症に対する valsartan の影響について検討を行った。

4. 研究成果

LPS 刺激下において 3T3-L1 脂肪細胞と RAW264.7 細胞を共培養し、脂肪細胞の遺伝子発現について継時的検討を行ったところ、LPS 刺激によって、nuclear factor-kappa B (NF- κ B)、thyroid hormone receptor、activator protein 1 の下流にある遺伝子群が大きく影響を受け、valsartan の添加によってこれらの変化が回復するという結果を得た (Fig.1)。また、valsartan は LPS 刺激による脂肪細胞の matrix metalloproteinase や caspase、integrin ファミリーの発現誘導を抑制することが明らかとなった (Fig.2) ことから、valsartan がマクロファージの浸潤した脂肪組織における遺伝子発現を正常化させ、アポトーシスや線維化を抑制する作用がインスリン感受性改善に関与している可能性が示された。また、マウスに valsartan を服用させ LPS 刺激誘導性の炎症に対する影響を検討した結果、脂肪組織および肝臓において valsartan が LPS 刺激誘導性の tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)、interleukin-6 (IL-6) 等の炎症性サイトカイン遺伝子発現や、血中 TNF- α 濃度の増大を抑制することが明らかとなった (Fig.3)。

これらの結果から、LPS によって活性化された NF- κ B の関連遺伝子群やその下流の炎症性サイトカイン発現が valsartan の投与によって *in vitro*、*in vivo* 双方で抑制され、マクロファージ浸潤によるインスリン抵抗性に対し valsartan 投与が有効である可能性が示唆された (Fig.4)。

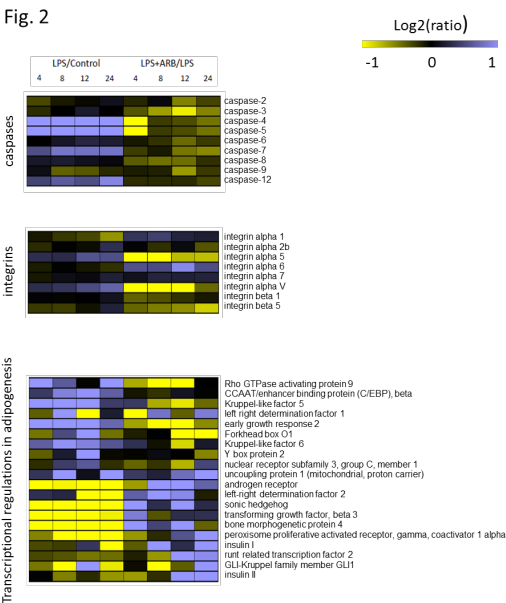
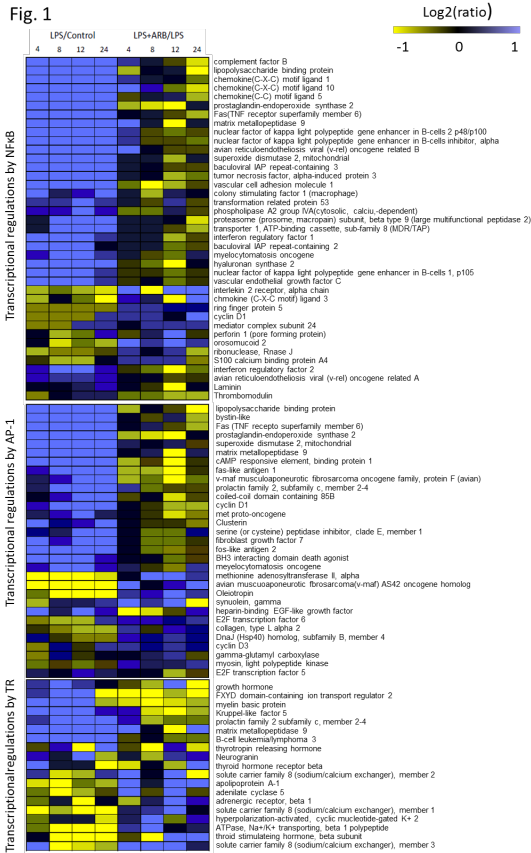
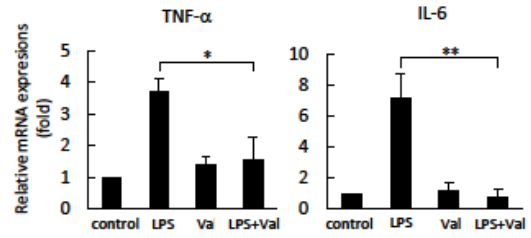
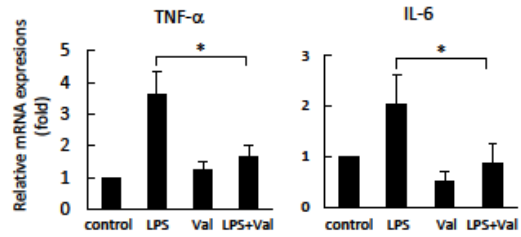


Fig.3
adipose tissue



liver



serum

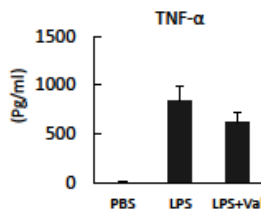
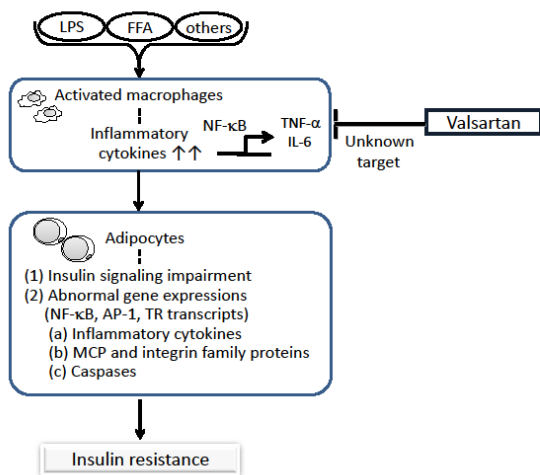


Fig.4



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 2件)

1. Misaki Iwashita, Yusuke Nakatsu, Hideyuki Sakoda, Midori Fujishiro, Akifumi Kushiya, Toshiaki Fukushima, Sonoko Kumamoto, Takanori Shinjo, Hideyuki Kamata, Fusanori Nishimura, Tomoichiro Asano, Valsartan restores inflammatory response by macrophages in adipose and hepatic tissues of LPS-infused mice, *adipocyte*, 2 (1), 査読有, 2013, 28-32, 10.4161/adip.21837

2. Sonoko Kumamoto, Akifumi Kushiya, Yusuke Nakatsu, Hideyuki Sakoda, Midori Fujishiro, Misaki Iwashita, Haruya Ohno, Jun Zhang, Ying Guo, Hiroyuki Aburatani, Hideaki Kamata, Fusanori Nishimura, Tomoichiro Asano, Angiotensin receptor 1 blocker valsartan normalizes gene expression profiles of 3T3-L1 adipocytes altered by co-culture with LPS-treated RAW264.7 macrophages, *Obesity Research & Clinical Practice*, 6 (4), 査読有, 2012, e288-e297, 10.1016/j.orcp.2012.05.005

〔学会発表〕(計 1件)

1. 藤城緑、岩下未咲、中津祐介、大久保博史、張君、大谷裕一郎、迫田秀之、櫛山暁史、菊池貴子、西村英紀、門脇孝、浅野知一郎、マクロファージとの共培養系において Valsartan が脂肪細胞の遺伝子発現に与える影響、第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会、2012 年 5 月 17 日～19 日、横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩下 未咲 (Iwashita Misaki)

広島大学・医歯薬保健学研究院(歯)・助教

研究者番号：80611326