

69. 脂肪由来因子「オメンチン」による動脈硬化制御機構

大内 乗有

名古屋大学 大学院医学系研究科 分子心血管病学寄附講座

Key words : アディポサイトカイン, オメンチン, 動脈硬化, 炎症

緒 言

我が国を含む先進国では動脈硬化性疾患をはじめとする心血管病は罹患率・死亡率ともに高く、経済的かつ社会的に大きな問題となっており、その病態解明と有効な治療法の確立は最重要課題である。肥満、特に内臓脂肪の過剰蓄積が、糖尿病、脂質代謝異常、高血圧を高率に合併するメタボリックシンドロームとその終末像である動脈硬化性疾患の重要な発症基盤であることが知られているが、詳細な分子機序は十分には解明されていない。

脂肪組織は「アディポサイトカイン（あるいはアディポカイン）」と総称される生理活性物質を分泌する内分泌臓器として重要である^{1,2)}。肥満状態においては、肥満症を惹起するアディポサイトカインの産生が増加し、一方で、肥満関連疾患に防御的に作用するアディポサイトカインの産生は低下する。このようなアディポサイトカインの産生異常が、肥満を基盤とした多くの代謝系・心血管系疾患の病態において、重要な役割を果たしていると考えられている。

オメンチンはヒト内臓脂肪に高発現するアディポサイトカインであり、その血中濃度は肥満患者で低下する。私たちは、臨床的に血中オメンチン濃度が動脈硬化性疾患患者において有意に低下していることを明らかにした³⁾。さらに、私たちは実験的にオメンチンが下肢虚血モデルやワイヤー障害モデルにおいて血管障害に保護的に作用することを明らかにした^{4,5)}。従って、オメンチンは心血管疾患の発症進展に関与する可能性が示唆されるが、動脈硬化における役割や分子機構については不明であった。本研究においては、オメンチンによる動脈硬化制御機構とその分子メカニズムを個体レベル、細胞レベルで解明することを目的とした。

方法、結果および考察

1. 動脈硬化モデルマウスにおけるオメンチンの動脈硬化進展に対する作用

脂肪由来のオメンチンの動脈硬化に対する作用を検討するため、脂肪を標的とする調節遺伝子である *aP2* プロモーターを用いて、ヒトオメンチンを脂肪組織に過剰発現するマウスを作製した。オメンチン発現マウスラインが得られ、そのなかで、ヒトオメンチンが脂肪組織に発現しており、かつ、血中ヒトオメンチン濃度がヒトにおける正常値の約2倍程度（約 900 ng/ml）上昇しているマウスラインを選択して、更なる解析に用いた。脂肪組織オメンチン過剰発現マウスは野生型マウスと比して、体重、摂食状態、脂肪や心臓を含めた臓器重量、血糖値などの糖代謝、脂質代謝や外観に変化を認めなかった。また、骨格筋での血管密度や血圧での検討においても、オメンチン過剰発現マウスと野生型マウスに著変を認めず、非ストレス状態においては、心血管系に異常を認めないと考えられた。

次に、動脈硬化を自然発症するアポリポ蛋白 E (ApoE) 欠損マウスと脂肪組織オメンチン過剰発現マウスを交配した。ApoE 欠損／オメンチン過剰発現マウスは ApoE 欠損マウスと比して総コレステロールなどの脂質プロファイルに差を認めなかった。動脈硬化巣をオイルレッド O 染色にて定量評価すると ApoE 欠損／オメンチン過剰発現マウスでは、ApoE 欠損マウスと比較して、動脈硬化面積は有意に抑制されていた ($p < 0.01$, t test) (図 1) ⁶⁾。

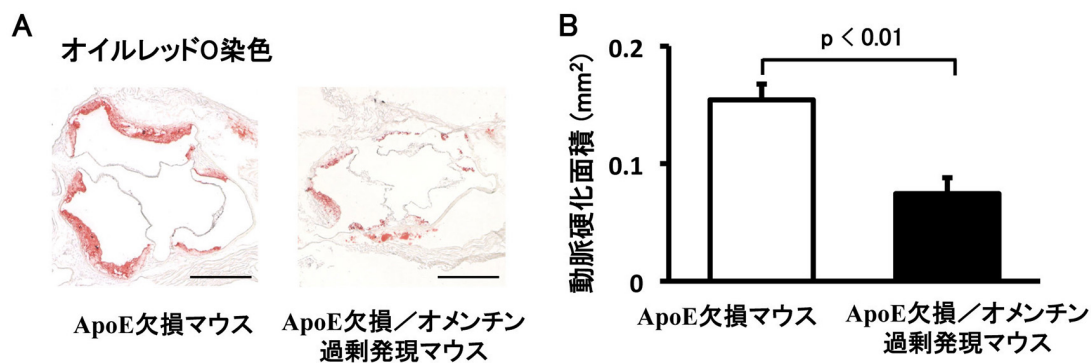


図 1. オメンチンは動脈硬化モデルマウスにおいて動脈硬化巣形成を抑制する
(文献 6 より改変引用)

(A) アポリポ蛋白 E (ApoE) 欠損マウスと ApoE 欠損/Oメンチン過剰発現マウスの大動脈洞をオイルレッド O にて染色した。Scale bar: 500 μ m。 (B) 動脈硬化面積をオイルレッド O 染色にて定量評価した。ApoE 欠損/Oメンチン過剰発現マウスでは、ApoE 欠損マウスと比較して、動脈硬化面積は有意に抑制されていた ($p < 0.01$, t test)。

Error bar: SEM。

マクロファージの集積や炎症は動脈硬化進展に関与するため、動脈硬化巣でのマクロファージをマーカーである MOMA2 染色で評価したところ ApoE 欠損/Oメンチン過剰発現マウスでは、ApoE 欠損マウスに比べて MOMA2 陽性領域の面積は有意に減少していた ($p < 0.05$, t test)。また、別のマクロファージのマーカーである F4/80 の発現を定量的 PCR 法にて評価すると ApoE 欠損/Oメンチン過剰発現マウスの動脈硬化巣では、ApoE 欠損マウスと比較して F4/80 の発現は有意に減少しており ($p < 0.05$, t test)、オメンチンは動脈硬化巣におけるマクロファージの集積を抑制すると示唆された。さらに、動脈硬化巣における炎症性サイトカインである tumor necrosis factor (TNF) と interleukin-6 (IL-6) の発現を定量的 PCR 法にて評価したところ ApoE 欠損/Oメンチン過剰発現マウスでは、ApoE 欠損マウスに比べて TNF と IL-6 の発現が有意に抑制されていた ($p < 0.05$, t test)。

動脈硬化形成においてアポトーシスは重要な役割を果たしているため、動脈硬化巣でのアポトーシスを TUNEL 染色にて評価した。ApoE 欠損/Oメンチン過剰発現マウスでは、ApoE 欠損マウスに比べて TUNEL 陽性細胞の数が有意に減少しており、オメンチンは動脈硬化巣でのアポトーシスを抑制すると示唆された。従って、オメンチンは動脈硬化進展に防御的に作用すると考えられた。

2. オメンチンによる泡沫化抑制作用

動脈硬化発症と進展に重要であるマクロファージの泡沫化に及ぼすオメンチンの影響を培養ヒト単球由来マクロファージを用いて検討した。ヒトマクロファージに生理的濃度 (600 ng/ml) のオメンチン蛋白を添加した。脂肪滴をオイルレッド O 染色にて評価するとオメンチン添加によりマクロファージの脂質蓄積は有意に減少していた ($p < 0.01$, t test)。さらに、オメンチン添加はマクロファージの Cholesteryl ester 含量も有意に抑制していた ($p < 0.05$, t test)。従って、オメンチンはマクロファージにおける泡沫化抑制作用を有すると考えられた。

3. オメンチンによる抗炎症作用

マクロファージの炎症反応に及ぼすオメンチンの影響を解析するため、ヒト単球由来マクロファージにオメンチン蛋白を前処理し、リボポリサッカライド (LPS) 刺激を行い炎症性サイトカインである TNF と IL-6 の発現を定量的 PCR 法にて評価した。マクロファージへのオメンチン添加は LPS によって誘導された TNF と IL-6 の発現増加を有意に抑制した ($p < 0.01$, t test)。また、炎症反応を調節する重要な転写因子である NF κ B のリン酸化に対するオメンチンの作用を Western blot 法にて評価した。オメンチン添加はマクロファージにおける LPS 刺激後の NF κ B のリン酸化を

有意に抑制していた ($p < 0.01$, t test)。従って、オメンチンはマクロファージにおいて炎症抑制作用を有すると考えられた。

4. オメンチンによる Akt シグナル活性化

オメンチンのマクロファージでの抗炎症作用の分子機序の解明のため、炎症調節シグナル分子である Akt と AMP キナーゼに着目し、リン酸化シグナルを Western blot 法にて解析した。オメンチンのマクロファージへの添加により Akt と AMP キナーゼのリン酸化は有意に増加した ($p < 0.05$, t test)。オメンチンによるマクロファージにおける LPS 存在下での TNF 発現抑制作用は Akt シグナルの阻害剤により有意に解除されたが ($p < 0.01$, ANOVA)、AMP キナーゼシグナルの阻害剤によって解除されなかった。同様に、マクロファージにおけるオメンチンの TNF 発現抑制作用はドミナントネガティブ型 Akt の過剰発現により解除された ($p < 0.01$, ANOVA)。さらに、オメンチンによるマクロファージの脂質蓄積抑制作用も Akt シグナルの阻害することにより解除された ($p < 0.01$, ANOVA)。従って、オメンチンはマクロファージにおいて Akt の活性化を介して炎症と泡沫化を抑制すると考えられた。



図 2. オメンチンによる動脈硬化防御作用

脂肪組織由来オメンチンはマクロファージの泡沫化と炎症反応を抑制することにより動脈硬化の進展に防御的に作用する。

以上より、オメンチンはマクロファージの泡沫化と炎症反応を阻害することにより動脈硬化の進展に抑制的に作用すると示唆された (図 2)。これまでに、オメンチンは虚血状態における内皮保護作用や血管障害後の新生内膜肥厚抑制作用を有し^{4,5)}、さらに心筋虚血再灌流後の心筋障害抑制作用も有していることが報告されており⁷⁾、オメンチンは肥満に伴う血管病や虚血性心疾患に保護的に作用すると考えられる。また、血中オメンチン濃度は肥満患者、特に、冠動脈疾患患者において低値を示すことが報告されており³⁾、オメンチン濃度の低下は動脈硬化をはじめとする心血管病の進展につながると示唆される。従って、オメンチンは肥満を基盤とした心血管系疾患の病態解明や治療法の開発につながる新規標的分子になりうると考えられた。

共同研究者

本研究の共同研究者は、名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科の室原豊明教授である。本稿を終えるにあたり、本研究を御支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):85-97. doi: 10.1038/nri2921. PubMed PMID: 21252989.
- 2) Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ. Res.* 2005;96(9):939-949. PubMed PMID: 15890981.
- 3) Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, Takahashi R, Takeshita K, Kataoka Y, Ohashi K, Ikeda N, Kihara S, Murohara T. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis.* 2011;219(2):811-814. doi: 10.1016/j.atherosclerosis. PubMed PMID: 21925659.
- 4) Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, Izumiya Y, Rokutanda T, Araki S, Kataoka Y, Ohashi K, Daida H, Kihara S, Ogawa H, Murohara T, Ouchi N. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem.* 2012;287(1):408-417. doi: 10.1074/jbc.M111.261818. PubMed PMID: 22081609.
- 5) Uemura Y, Shibata R, Kanemura N, Ohashi K, Kambara T, Hiramatsu-Ito M, Enomoto T, Yuasa D, Joki Y, Matsuo K, Ito M, Hayakawa S, Ogawa H, Murohara T, Ouchi N. Adipose-derived protein omentin prevents neointimal formation after arterial injury. *FASEB J.* 2015;29(1):141-151. doi: 10.1096/fj.14-258129. PubMed PMID: 25300621.
- 6) Hiramatsu-Ito M, Shibata R, Ohashi K, Uemura Y, Kanemura N, Kambara T, Enomoto T, Yuasa D, Matsuo K, Ito M, Hayakawa S, Ogawa H, Otaka N, Kihara S, Murohara T, Ouchi N. Omentin attenuates atherosclerotic lesion formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Cardiovasc Res.* 2016;110(1):107-117. doi: 10.1093/cvr/cvv282. PubMed PMID: 26714927.
- 7) Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Enomoto T, Uemura Y, Ogura Y, Yuasa D, Matsuo K, Nagata T, Oba T, Yasukawa H, Numaguchi Y, Sone T, Murohara T, Ouchi N. Omentin prevents myocardial ischemic injury through AMP-activated protein kinase- and Akt-dependent mechanisms. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(24):2722-2733. doi: 10.1016/j.jacc.2014.03.032. PubMed PMID: 24768874.