

研究助成 2016—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科学
氏 名	藤島 裕也
研究テーマ	アディポネクチンの組織集積のメカニズムと、その抗動脈硬化作用の解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

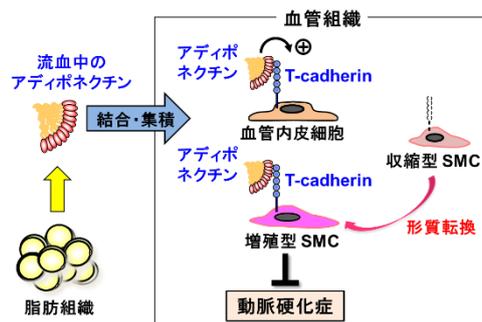
脂肪細胞特異的分泌蛋白アディポネクチンは心血管保護作用を有することが示されてきたが、その機序は充分には解明されていない。我々は、アディポネクチン蛋白が心血管組織に集積していること、このようなアディポネクチンの組織集積には、GPI アンカー型蛋白である T-cadherin が必須の分子であることを見出した。さらに、ヒト GWAS 解析では T-cadherin 遺伝子の SNP は、血中アディポネクチン濃度を強く規定するだけでなく、心血管疾患とも関連することが明らかとなっている。本研究では、アディポネクチン結合蛋白 T-cadherin に着目し、その作用メカニズムを解明することを目的とした。

血管組織におけるアディポネクチン蛋白の局在を検討したところ、健常マウスの大動脈では血管内皮に限局して集積していたが、動脈硬化モデルマウスである ApoE 欠損マウスの動脈硬化巣においては、内皮のみならずブラーク内部の増殖型平滑筋においても集積を認め、いずれも T-cadherin とは共局在していた。また、T-cadherin/ApoE ダブル欠損マウス(Tcad/ApoE-DKO)では、血管組織へのアディポネクチン集積を認めず、血中アディポネクチン濃度は著明に高値であるにも関わらず、粥状動脈硬化病変の進行を認めた。また、頸動脈結紮による血管平滑筋増殖モデルにおいても、野生型マウスの新生内膜では T-cadherin を介したアディポネクチンの集積を認めたが、Tcad/ApoE-DKO ではアディポネクチン集積がみられず、著しい内膜増殖を呈した。これらの結果から、血管内皮細胞だけでなく、動脈硬化進展過程において平滑筋細胞が収縮型から増殖型に形質転換すると、T-cadherin 発現の上昇を介してアディポネクチンが集積し、血管保護作用を発揮することが示された。

続いて、アディポネクチン/T-cadherin 結合の様式を明らかとするために、T-cadherin 細胞外ドメインをヒト IgGFc 領域に融合させた蛋白質(Tcad-Fc)を作製した。その結果、Tcad-Fc は野生型マウス血清中のアディポネクチンのうち、生理活性作用が強いとされる 6 量体以上の高分子量体とカルシウムイオン依存的に結合し、その結合定数は $K_d=1nM$ と高い親和性を示した。さらにこの手法を用いることにより、マウス血清から純度の高い高分子多量体アディポネクチンを精製する手法を樹立した。

T-cadherin は GPI-アンカー型膜蛋白であり細胞内ドメインは有さないため、アディポネクチンと結合後、いかに作用発現に至るかは不明である。そこで、この精製高分子量体アディポネクチンを用いた検討を行った。その結果、アディポネクチンは血管内皮細胞の表面だけでなく、エクソソーム(Exo)生合成の場である細胞内部の多胞体 (multi vesicular body:MVB) に、T-cadherin とともに豊富に存在することが、免疫電顕により示された。また、アディポネクチンは T-cadherin 依存的に血管内皮細胞の Exo の生成・分泌を促進し、その過程で炎症惹起に関わる Ceramide を細胞外へ搬出させることが明らかとなった。さらに、アデノウイルスによるアディポネクチンの補充は、Angiotensin II 負荷に伴う大動脈の Ceramide 蓄積を有意に減少させたが、T-cadherin 欠損マウスでは、このようなアディポネクチンの効果は消失した。以上の結果から、T-cadherin を介したアディポネクチンの血管保護作用は、一部 Exo 分泌促進に伴う血管内皮の Ceramide 蓄積軽減により説明される可能性がある。

T-cadherin 発現とアディポネクチンの集積は、大動脈だけでなく、腎臓の細動脈や骨格筋においても確認されている。今後は上記のアディポネクチン/T-cadherin システムが、動脈硬化だけでなく、腎障害や骨格筋再生・フレイル等を与える影響についても順次検討していく予定である。



研究助成 2016—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所 属	大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科学
氏 名	藤島 裕也

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	Obata Y, Kita S, Koyama Y, Fukuda S, Takeda H, Takahashi M, Fujishima Y, Nagao H, Masuda S, Tanaka Y, Nakamura Y, Nishizawa H, Funahashi T, Ranscht B, Izumi Y, Bamba T, Fukusaki E, Hanayama R, Shimada S, Maeda N, Shimomura I, Adiponectin/T-cadherin system enhances exosome biogenesis and decreases cellular ceramides by exosomal release, JCI Insight, 2018, 3, in press. (査読あり)
2	Fukuda S, Kita S, Obata Y, Fujishima Y, Nagao H, Masuda S, Tanaka Y, Nishizawa H, Funahashi T, Takagi J, Maeda N, Shimomura I, The unique prodomain of T-cadherin plays a key role in adiponectin binding with the essential extracellular cadherin repeats 1 and 2, J. Biol. Chem., 2017, 292, 7840-7849. (査読あり)
3	Fujishima Y, Maeda N, Matsuda K, Masuda S, Mori T, Fukuda S, Sekimoto R, Yamaoka M, Obata Y, Kita S, Nishizawa H, Funahashi T, Ranscht B, Shimomura I. Adiponectin association with T-cadherin protects against neointima proliferation and atherosclerosis. FASEB J. 2017 31:1571-1583. (査読あり)

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2018年4月28日	発表学会名:第91回日本内分泌学会学術総会、発表者名:藤島 裕也、演題:GPI アンカー特異的切断酵素;GPI-PLD は、肝ジアシルグリセロール蓄積と耐糖能異常に関与する
2	2017年5月18日	発表学会名:第60回日本糖尿病学会年次学術総会、発表者名:藤島裕也、演題:GPI アンカー特異的切断酵素;GPI アンカー切断酵素 GPI-PLD が、糖・脂質代謝に与える影響
3	2016年10月7日	発表学会名:第38回日本肥満学会、発表者名:藤島 裕也、演題:T-cadherin を介したアディポネクチンの組織集積と血管保護作用
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2018年8月3日	American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.