

## 杏林医学会研究奨励賞を受賞して

高橋和人

杏林大学医学部第三内科学教室

今回の研究奨励賞受賞論文：Endogenous oxidative stress, but not ER stress, induces hypoxia-independent VEGF<sub>120</sub> release through PI3K-dependent pathways in 3T3-L1 adipocytes. Takahashi K, et al. Obesity 21: 1625-1634, 2013に関し、この研究は、我々が以前報告した：JNK- and IκB-dependent pathways regulate MCP-1, but not adiponectin, release from artificially hypertrophied 3T3-L1 adipocytes preloaded with palmitate in vitro. Takahashi K, et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 294: E898-E909, 2008を基盤として、その実験が順次遂行されている。

このAm J Physiol Endocrinol Metabの論文は、2型糖尿病の根幹病態であるインスリン抵抗性発症の基盤となっている脂肪組織の慢性炎症において、脂肪組織へのマクロファージ動員など慢性炎症誘導のイニシエーションとなる役割を担っている肥大化脂肪細胞からのMCP-1分泌増大に関し、その制御機構を解明した研究である。我々は、肥大化にともない増大した内因性の酸化ストレスが、JNK-NF-κB経路を活性化させることによりMCP-1分泌を増大させることを見出した。

一方、脂肪細胞の肥大化にともない血管新生因子のVEGFの遺伝子発現及び分泌が増大することが報告された。そして、低酸素状態がVEGF遺伝子発現及び分泌の増大に関与することが知られているが、肥大化脂肪細胞においてはVEGFを増大させる機序としては低酸素非依存的な制御機構も存在し、さらにこの制御機構が肥大化脂肪細胞におけるVEGF増大の中心的役割を担っていることも示された。また、db/dbマウスに抗VEGF抗体を投与することにより脂肪組織へのマクロファージ浸潤が抑制され慢性炎症が惹起されないことも実証された。したがって、肥大化脂肪細胞よりの低酸素非依存的なVEGF分泌増大が脂肪組織の慢性炎症のトリガーとなりうることが考えられ、VEGFもMCP-1と並び最も重要な炎症性アディポカインであると推測されたが、しかしながら肥大化脂肪細胞

における低酸素非依存的VEGF発現と分泌の制御機構は全くといっていいほど解明されていなかった。

このため我々は、以前のAm J Physiol Endocrinol Metabの研究を基に、非低酸素状態で3T3-L1脂肪細胞にパルミチン酸を負荷して人為的に肥大化を誘導し、VEGFの遺伝子発現と分泌動態の変化、ならびにこれらに関連する制御機構の解明を目標に研究を邁進し、その結果を今回の受賞論文（Obesity）で報告した。この論文の大きな特質としては、ヘパリン結合ドメインをもつVEGF（VEGF<sub>188</sub>、VEGF<sub>164</sub>など）は、細胞外マトリックス及び細胞表面に結合することより培養液中の濃度とその分泌能を正確には反映していないため、ヘパリン結合ドメインをもたず局所から速やかに拡散する主要なVEGFのアイソフォームのVEGF<sub>120</sub>に的を絞って検討したことである。VEGF分泌に関しての以前の研究では、ほとんど全てがヘパリン結合ドメインを有するVEGF<sub>164</sub>単独の検討、もしくはヘパリン結合ドメインを有するVEGFと欠如したVEGF両者を含めての解析であり、我々の実験系とは異なり不満の残る結果となっていた。そして、このVEGF<sub>120</sub>は、非低酸素状態下において肥大化脂肪細胞で増大した内因性酸化ストレスにより、その遺伝子発現ならびに分泌が正に制御されていた。加えて、我々はこれにPI3K経路の活性化が密接に関与することも実証した。

さらに、我々はmitochondrial uncouplingが3T3-L1脂肪細胞においてAMPKの活性化を介してVEGF<sub>120</sub>分泌を増大させること、ならびにAMPKの活性化によるJNK経路の抑制と小胞体ストレスの誘導を介してMCP-1分泌を減弱させることを確認し、mitochondrial uncouplingがVEGF<sub>120</sub>ならびにMCP-1分泌の調節を介しインスリン抵抗性を制御していることを報告した（Induction of enhances VEGF<sub>120</sub> but reduces MCP-1 release in mature 3T3-L1 adipocytes: possible regulatory mechanism through endogenous ER stress and AMPK-related

pathways. K. Miyokawa-Gorin\*, K. Takahashi\*, et al. (\*equally contributed) *Biochem Biophys Res Commun* 419: 200–205, 2012)。また、同じく3T3-L1脂肪細胞においてghrelinがPI3Kの活性化を介してVEGF<sub>120</sub>分泌を増大させること、AMPK活性の抑制によるJNK経路の活性化を介してMCP-1分泌を増大させることも確認し、ghrelinが末梢組織においてはインスリン抵抗性誘導因子としての役割を担っていることを初めて実証した (Ghrelin augments the expressions and secretions of proinflammatory adipokines, VEGF<sub>120</sub> and MCP-1, in differentiated 3T3-L1 adipocytes. Kitahara A, et al. *J Cell Physiol* 230: 199–209, 2015)。加えて我々は、パルミチン酸が骨芽細胞においてTLR4及びその下流で働く

PI3K経路の活性化を介して破骨細胞活性化因子であるVEGF<sub>120</sub>の分泌を増大させることを確認し、2型糖尿病での骨代謝異常の発症には、2型糖尿病に高頻度に合併する脂質異常症（高脂血症）により骨芽細胞からのVEGF<sub>120</sub>分泌の増大が誘導され、これが破骨細胞を異常活性化させることが鍵となっていることを報告している (Possible involvement of PI3K-dependent pathways in the increased VEGF120 release from osteoblastic cells preloaded with palmitate in vitro. Moriya R, et al. *Biochem Biophys Res Commun* 445: 275–281, 2014)。現在、脂肪細胞や骨芽細胞に加え、膵β細胞を使用した研究も進行中であり、今後もさらなる新知見を報告していきたいと考えている。