

森内昭江 論文内容の要旨

主 論 文

Induction of human adiponectin gene transcription by telmisartan, angiotensin receptor blocker, independently on PPAR- γ activation

(アンジオテンシン受容体阻害薬, テルミサルタンによる
ヒトアディポネクチン遺伝子転写促進作用は PPAR- γ 非依存性である)

森内昭江、山崎浩則、嶋村美加、喜多篤志、桑原宏永、藤島圭一郎、佐藤剛、
福島慶子、福島徹也、早川堯夫、水口裕之、永山雄二、
阿比留教生、川崎英二、江口勝美

(Biochemical and Biophysical Research Communications 356 : 1024-1030, 2007)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：江口勝美教授)

【緒 言】

アディポネクチンはインスリン抵抗性改善作用や抗動脈硬化作用を発揮する脂肪細胞分泌タンパク質である。内臓脂肪蓄積によるインスリン抵抗性、動脈硬化に特徴づけられるメタボリックシンドロームが増加しているが、これら患者では血中アディポネクチン濃度が低い。インスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体はアディポネクチンの mRNA 発現および血中濃度の上昇作用を持ち、その作用は PPAR- γ を介在していることが分かっている。近年、高血圧治療薬であるアンジオテンシン II 受容体阻害薬 (以下 ARB) は血中アディポネクチン値上昇作用やインスリン抵抗性改善作用があること、そして更に ARB のサブタイプであるテルミサルタンには PPAR- γ 活性化作用も存在することが報告された。これらよりテルミサルタンは PPAR- γ を介在してアディポネクチン転写を促進していると予想される。そこで、テルミサルタンのヒトアディポネクチン遺伝子転写制御に対する影響と PPAR- γ 依存性について 3T3-L1 脂肪細胞で検討した。

【対象と方法】

fmAd-pAdp-LUC の作製とその機能評価：ヒトアディポネクチン遺伝子のプロモーター領域 (2.1kb) で制御されるルシフェラーゼベクターを作製、それをアデノウイルスベクターに組み込んだ (fmAd-pAdp-LUC と命名)。3T3-L1 成熟脂肪細胞 (以下 3T3-L1) に fmAd-pAdp-LUC を感染させヒトアディポネクチン転写活性をルシフェラーゼアッセイで評価すると、ヒトアディポネクチンプロモーターを従来ベクターに組み込んで transfection した場合と比べて、ルシフェラーゼ活性も大きく、測定結果の再現性が高いという特性があった。

PPAR- γ 活性化についての検討：古典的 PPAR- γ 反応塩基配列：TGAAACTAGGTAAAGTTCA \times 3 で制御されるルシフェラーゼベクター (PPRE-LUC) および phSV40 を internal control として HEK293 細胞に遺伝子導入し、評価した。

薬剤および阻害剤：テルミサルタン (0~20 μ M), カンデサルタン (0~10 μ M), ピオグリタゾン (10 μ M) で 24 時間刺激後, ルシフェラーゼで評価した. MAP キナーゼおよび PI3 キナーゼ経路の関与の検討では, 阻害剤としてそれぞれ PD98059 (10 μ M) および LY294002 (10 μ M) を用いた. PPAR- γ の関与の検討では PPAR- γ 阻害剤である GW9662 (30 μ M) を用いた.

【結 果】

fmAd-pAdp-LUC を 3T3-L1 に感染させた後, 薬剤および阻害薬を添加しヒトアディポネクチン転写活性を解析した (結果 1-4). PPRE-LUC を HEK293 細胞に transfection した後, 薬剤および阻害薬を添加し PPAR- γ 活性化能を解析した (結果 5).

結果 1 : 10 μ M のピオグリタゾンは 2.9 倍のアディポネクチン転写上昇を, 5 μ M のテルミサルタンは 2.1 倍の転写上昇を示したが, カンデサルタンには無反応であった.

結果 2 : アンギオテンシン II そのものには, 無反応であった.

結果 3 : MAP キナーゼ阻害薬 (PD98059) および PI3 キナーゼ阻害剤 (LY294002) の前処理では, テルミサルタンによるアディポネクチン転写上昇は阻害されなかった.

結果 4 : ピオグリタゾンによる転写上昇は PPAR- γ 阻害剤 (GW9662) の前処理によってほぼ完全に遮断されたが, テルミサルタンによる転写上昇は全く遮断されなかった.

結果 5 : ピオグリタゾンおよびテルミサルタンは両方とも PPAR- γ 活性化能があり, いずれも GW9662 の前処理にて遮断された.

【考 察】

ピオグリタゾンとテルミサルタンの両方にアディポネクチン遺伝子転写促進作用があった. しかし, ピオグリタゾンの作用は PPAR- γ 依存性であるのに対し, テルミサルタンのそれは PPAR- γ 非依存性であった. 両薬剤は PPAR- γ 活性化能を有することは本研究でも確かめられた. しかし, テルミサルタンの結合した PPAR- γ の立体構造は, ピオグリタゾンの結合したそれと相違があることが報告されており, またヒトアディポネクチン上流領域で同定された PPAR- γ 反応領域の配列は, 古典的 PPAR- γ 配列と相溶性が少なく, また anti-sense 側に存在している. したがって, テルミサルタンは PPAR- γ 活性化を導くとしても, PPAR- γ 依存性のヒトアディポネクチン転写促進にはつながっていない可能性が考えられる. では, テルミサルタンによるアディポネクチン転写促進作用は PPAR- γ 以外にどのような機序が考えられるか. 我々の実験系で PPAR- α アゴニストである bezafibrate がアディポネクチン転写を促進したことより (非公開結果), PPAR- α は重要な転写因子の候補のひとつと考えられた. また bezafibrate 投与では, OLETF rat のアディポネクチン mRNA 量の上昇やヒトのアディポネクチン血中濃度上昇も報告されている.

今後更なるアディポネクチン転写の機序の解明が進めばメタボリックシンドロームや 2 型糖尿病患者でみられる低アディポネクチン血症の治療に繋がると思われる.