

細胞内代謝を標的とした生活習慣病の診断・治療法の開発

南野 徹

新潟大学大学院医歯学総合研究科 循環器内科

【研究の背景】

転写因子 p53 は癌化刺激や虚血・酸化ストレスなど様々な外的ストレスによって活性化される癌抑制因子として知られている^{1, 2)}。これは細胞が悪性化することに対する1つの防御機構とされており、p53 が「ゲノムの守護神」と呼ばれる所以である。一方で、癌のみならず様々な加齢関連疾患においても p53 活性化が重要な役割を果たしていることが最近分かってきた。例えば、血管における老化³⁻⁵⁾ や心不全⁶⁾、糖尿病^{7, 8)} などがそれにあたる。また、酸化 LDL やアンギオテンシン II といった動脈硬化促進因子も p53 を含めた細胞周期制御因子を活性化させ、血管機能異常に寄与することも分かってきた^{4, 5)}。ヒトの糖尿病患者においても、血管の p53 が活性化していること^{9, 10)} やその活性化が心血管病の進展に関連すること^{11, 12)} も報告されている。しかしながら、肥満に関連した代謝異常に血管 p53 活性化が寄与するかについては未だ明らかになっていない。

【目 的】

ヒトの糖尿病患者において、血管の p53 が活性化していることやその活性化が心血管病の進展に関連することが報告されている。しかしながら、肥満に関連した代謝異常に血管 p53 活性化が寄与するかについては未だ明らかになっていない。そこで本研究では、血管内皮細胞 p53 が代謝に与える影響について検証することを目的とした。

【方 法】

まず野生型マウスに高カロリー食を投与して食餌性肥満モデルを作成し、大動脈・肺/骨格筋の血管内皮細胞を評価した。これらのマウスを用いて標本切片の染色・蛋白抽出や RNA 抽出による分子発現確認を行った。次に血管内皮細胞 p53 の役割を評価するために p53 floxed マウスを Tie2Cre マウスもしくは PdgfrCre マウスと交配して血管内皮細胞特異的 p53 ノックアウトマウスを作製した。また逆に p53 過剰発現マウスを作成するため、p53 のユビキチン分解経路分子である Mdm4 をターゲットにした floxed マウスを PdgfrCre と交配した。それぞれのマウスの代謝機能を評価するため、経時的な体重変化追跡・CT スキャンによる脂肪蓄積量計測・グルコースもしくはインスリン負荷試験による耐糖能検査/インスリン感受性検査・呼吸代謝機能計測ケージを用いた酸素消費量計測・テレメトリー留置による行動量/深部体温検査などを行った。

【結 果】

本研究で、我々は糖代謝における血管内皮細胞 p53 の役割を探索した。まず我々は高カロリー食負荷によりマウスの血管内皮細胞において p53 が活性化することを発見した。そこでこの p53 の役割を解析するために血管内皮細胞特異的 p53 ノックアウトマウスを作製し高カロリー食を負荷したところ、コントロールマウスと同等の食餌摂取量にもかかわらず脂肪の蓄積とインスリン抵抗性が有意に改善した。さらに解析を進めたところ、p53 は血管内皮細胞において eNOS の活性を負に制御し、その結果骨格筋のミトコンドリア生合成ならびにエネルギー消費を司る Pgc-1 α の発現が抑制されることが分かった。またこれとは異なるメカニズムとして、糖輸送分子の 1 つである Glut1 が血管内皮細胞において p53 によって抑制的に制御されており、高カロリー負荷による p53 活性化の結果糖分子の輸送が障害されることも明らかとなった。さらに逆に血管内皮細胞特異的に p53 を過剰発現するマウスを作成したところ、糖代謝障害が悪化した。すなわち血管内皮細胞 p53 の抑制はエネルギー消費・糖取り込みを促進することで糖代謝障害を改善することから、食餌負荷による血管内皮細胞 p53 の活性化がインスリ

ン抵抗性を引き起こす血管障害の原因となると考えられる。

【考 察】

糖や脂質の変化は血流を介して直接血管細胞の機能に影響する。血管内皮細胞は大血管から毛細血管に至るまで血管システム全体に渡り存在しており、NO や炎症サイトカインなど様々な分子を産生することで組織微小循環を制御している。今回我々は高カロリー・負荷時に生体組織内の血管内皮細胞で p53 が活性化することを見いだした。そしてこの変化がエネルギー消費・糖輸送に悪影響を及ぼすことで肥満やインスリン抵抗性を惹起して代謝異常を促進することを発見した。血管内皮細胞での p53 活性化を抑制することで高カロリー食摂取による脂肪の蓄積・炎症を抑えることができ、結果としてインスリン抵抗性を改善することができる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

血管内皮細胞 p53 を抑制する戦略は、今後新たな糖尿病の治療のストラテジーになりうると考えられる。

【参考・引用文献】

1. Serrano M and Blasco MA. Putting the stress on senescence. *Curr Opin Cell Biol.* 2001;13:748-53.
2. Stewart SA and Weinberg RA. Telomeres: cancer to human aging. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2006;22:531-57.
3. Chen J and Goligorsky MS. Premature senescence of endothelial cells: Methusaleh's dilemma. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology.* 2006;290:H1729-39.
4. Minamino T and Komuro I. Vascular cell senescence: contribution to atherosclerosis. *Circulation research.* 2007;100:15-26.
5. Minamino T and Komuro I. Vascular aging: insights from studies on cellular senescence, stem cell aging, and progeroid syndromes. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2008;5:637-48.
6. Sano M, Minamino T, Toko H, Miyauchi H, Orimo M, Qin Y, Akazawa H, Tateno K, Kayama Y, Harada M, Shimizu I, Asahara T, Hamada H, Tomita S, Molkentin JD, Zou Y and Komuro I. p53-induced inhibition of Hif-1 causes cardiac dysfunction during pressure overload. *Nature.* 2007;446:444-8.
7. Chang S, Multani AS, Cabrera NG, Naylor ML, Laud P, Lombard D, Pathak S, Guarente L and DePinho RA. Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome. *Nat Genet.* 2004;36:877-82.
8. Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, Nojima A, Nabetani A, Oike Y, Matsubara H, Ishikawa F and Komuro I. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nature medicine.* 2009;15:1082-7.
9. Brodsky SV, Gealekman O, Chen J, Zhang F, Togashi N, Crabtree M, Gross SS, Nasjletti A and Goligorsky MS. Prevention and reversal of premature endothelial cell senescence and vasculopathy in obesity-induced diabetes by ebselen. *Circulation research.* 2004;94:377-84.
10. Orimo M, Minamino T, Miyauchi H, Tateno K, Okada S, Moriya J and Komuro I. Protective role of SIRT1 in diabetic vascular dysfunction. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2009;29:889-94.
11. Beckman JA, Creager MA and Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA.* 2002;287:2570-81.
12. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M and Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell.* 1998;92:829-39.