

心血管・代謝疾患における脂質シャペロンの役割解明

古橋真人

札幌医科大学 循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座

【研究の背景】

脂質シャペロンの一つである脂肪酸結合タンパク (fatty acid-binding protein, FABP) の中で FABP4 は脂肪細胞とマクロファージに発現し、炎症および細胞内脂質代謝に深く関与することが報告されている。我々は、これまでに糖尿病および動脈硬化に対して FABP4 が新規の薬物治療ターゲットになりうることを示した。近年、アミノ酸配列上シグナルペプチドを持たないにもかかわらず、FABP4 が脂肪細胞から分泌され、新規のアディポカインとして働くことが報告された。また、疫学的な検討から FABP4 の血中濃度が肥満、糖尿病、高血圧、動脈硬化などと関連することが示されている。

最近、FABP4 が脂肪細胞やマクロファージのみならず、心臓や腎臓を含めた臓器における末梢の毛細血管や小静脈の血管内皮細胞に発現することが示された。その生理的意義として、毛細血管レベルでの脂肪酸輸送に関与することが示唆されている。最近、通常動脈の血管内皮細胞には FABP4 は発現しないが、細胞老化や血管傷害などにより血管内皮細胞に FABP4 が異所性に誘導されることが報告された。

【目 的】

細胞老化や血管傷害により血管内皮細胞に異所性に FABP4 が発現する機序や病態的意義は明らかではない。本研究の目的は血管内皮細胞における異所性 FABP4 発現の意義と制御機構を明らかにすることである。

【方 法】

1. 血管内皮細胞に異所性 FABP4 発現が誘導される血管傷害モデル(大腿動脈ワイヤー傷害)を野生型マウスと FABP4 欠損マウスで作成して、血管内皮での FABP4 の異所性発現、新生内膜形成、炎症マーカーの発現などを含めて比較検討した。
2. ヒト冠動脈由来血管内皮細胞(HCAEC)に FABP4 を過剰発現させて分泌機構を検討した。
3. HCAEC に FABP4 を過剰発現させ、炎症マーカーや接着・増殖因子の発現、eNOS のリン酸化を検討した。
4. HCAEC に FABP4 を過剰発現させて培養した Conditioned Medium (CM) をヒト冠動脈由来血管平滑筋細胞(HCASM) に作用させて、パラクライン作用として、HCASM での炎症マーカーや接着・増殖因子の発現や増殖・遊走能を検討した。さらに FABP4 中和抗体を追加投与してその効果を検討した。
5. HCAEC に FABP4 を過剰発現させて培養した CM を HCAEC に作用させて、オートクライン作用として、HCAEC での炎症マーカーや接着・増殖因子の発現を検討した。さらに FABP4 中和抗体を追加投与してその効果を検討した。
6. HCAEC および HCASM にリコンビナント FABP4 を投与して共培養実験で行なった項目を検討した。また、FABP4 中和抗体を追加投与してその効果を検討した。

【結 果】

1. 野生型マウスにおいては大腿動脈ワイヤー傷害後に動脈の血管内皮細胞に異所性の FABP4 発現が確認されたが、FABP4 欠損マウスにおいては FABP4 の発現は認められなかった。新生内膜形成は野生型マウスに比べ FABP4 欠損マウスにおいて有意に抑制されていた。血管組織の解析では *MC1P1*, *Il1b*, *Il6*, *Tnf α* などの炎症性マーカーが野生型マウスに比べ FABP4 欠損マウスにおいて有意に低値であった。
2. FABP4 を過剰発現させた HCAEC から CM 中への FABP4 の分泌を確認した。脂肪細胞で脂肪分解とともに分泌されることから、 β 刺激薬を投与して検討したところ、若干の分泌促進が確認された。
3. FABP4 を過剰発現させた HCAEC では、*MC1P1*, *Il1b*, *Il6*, *Tnf α* などの炎症性マーカーや *Icam1*, *Sele*, *Itga5*, *Itgb3* などの接着・増殖因子の発現が有意に亢進し、VEGF やインスリン刺激による eNOS のリン酸化が有意に低下した。
4. HCAEC に FABP4 を過剰発現させて培養した CM を HCASMC に作用させたところ、*MC1P1*, *Il1b*, *Il6*, *Tnf α* などの炎症性マーカーや *Pdgfra*, *Pdgfrb*, *Itga5*, *Itgb3* などの接着・増殖因子の発現が有意に亢進し、その効果は FABP4 中和抗体の投与でキャンセルされた。また、増殖能 (MTS assay, BrdU assay) や遊走能 (スクラッチアッセイ) も有意に亢進し、FABP4 中和抗体の投与でその効果が抑制された。
5. HCAEC に FABP4 を過剰発現させて培養した CM を HCAEC に作用させたところ、*MC1P1*, *Il1b*, *Il6*, *Tnf α* などの炎症性マーカーや *Icam1*, *Sele*, *Itga5*, *Itgb3* などの接着・増殖因子の発現が有意に亢進し、その効果は FABP4 中和抗体の投与でキャンセルされた。
6. HCAEC および HCASMC にリコンビナント FABP4 を投与したところ、炎症性マーカーや接着・増殖因子の発現が有意に亢進し、その効果は FABP4 中和抗体の投与でキャンセルされた。

【考 察】

血管傷害により再生された血管内皮細胞において、異所性に FABP4 が発現し、局所で分泌され、近傍の血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、骨髄由来の前駆細胞にオートクライン、パラクラインすることが考えられた。その結果、血管内皮細胞では炎症反応が亢進し、eNOS リン酸化が低下し、血管内皮機能としての血管弛緩反応の低下が誘導され、血管平滑筋(様)細胞では炎症反応が亢進し、増殖能や遊走能が増加することが示され、これらが新生内膜形成に関与することが推察された。臨床的には血管形成術後の再狭窄に血管内皮での異所性 FABP4 発現が病態に関与することが示唆され、新規の治療ターゲットになる可能性が期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

血管障害のみならず老化に伴う異所性発現型 FABP4 の制御機構や作用を解明し、受容体を含め FABP4 の生理活性物質として作用機序を明らかにすることにより、心血管・代謝疾患のみならず血管傷害に対する新たな治療戦略につながることを期待される。異所性発現型 FABP4 の発現抑制や血中 FABP4 の中和や分解、受容体の拮抗薬などは各種疾患の新規の治療戦略となる可能性がある。

【参考・引用文献】

1. [Furuhashi M.](#) Fatty acid-binding protein 4 in cardiovascular and metabolic diseases. *J Atheroscler Thromb* 26: 216-232, 2019
2. Numaguchi R, [Furuhashi M.](#), Matsumoto M, Sato H, Yanase Y, Kuroda Y, Harada R, Ito T, Higashiura Y, Koyama M, Tanaka M, Moniwa N, Nakamura M, Doi H, Miura T, Kawaharada N. Differential phenotypes in perivascular adipose tissue surrounding the internal thoracic artery and diseased coronary artery. *J Am Heart Assoc* 8: e011147, 2019

3. Fuseya T, Furuhashi M, Matsumoto M, Watanabe Y, Hoshina K, Mita T, Ishimura S, Tanaka M, Miura T. Ectopic fatty acid-binding protein 4 expression in the vascular endothelium is involved in neointima formation after vascular injury. *J Am Heart Assoc* 6: e006377, 2017
4. Furuhashi M. Fatty acid-binding proteins, a family of lipid chaperones. In Otto Geiger ed. *Biogenesis of Fatty Acids, Lipids and Membranes, Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*: pp1-16, 2017