



Knockout of Endothelin-1 in Vascular Endothelial Cells Protects Against Insulin Resistance Induced by High-Salt Diet in Mice

Iwasa, Naoko

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2010-03-25

(Date of Publication)

2011-07-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5027

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005027>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名	岩佐 尚子
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学 位 記 番 号	博い第 5027 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の 日 付	平成 22 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Knockout of Endothelin-1 in Vascular Endothelial Cells Protects Against Insulin Resistance
Induced by High-Salt Diet in Mice(血管内皮細胞由来エンドセリンー 1 欠損マウスにおける高食塩食
負荷インスリン抵抗性の誘導抑制)

審 査 委 員

主 査	教 授	久野 高義
	教 授	松尾 雅文
	教 授	中村 俊一

学位論文の内容要旨

Knockout of Endothelin-1 in Vascular Endothelial Cells Protects Against Insulin Resistance Induced by High-Salt Diet in Mice

血管内皮細胞由来エンドセリン-1欠損マウスにおける高食塩食負荷
インスリン抵抗性の誘導抑制

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
循環器内科学
(指導教員：平田 健一 教授)

岩佐 尚子

インスリン抵抗性は2型糖尿病や心血管病のハイリスク患者を同定する上で重要とされるメタボリック症候群の進行に重大な役割を担うとされている。一方、エンドセリン-1 (ET-1) は主として血管内皮細胞由来で血管平滑筋細胞における血管収縮作用をもつペプチドであり、ET-1 および2種類の受容体 (ETAおよびETB) は脂肪組織を含めた様々な組織での発現が報告されている。これまでに肥満および高血圧患者のインスリン抵抗性の進展に血中ET-1の上昇の関与が報告されているが、その機序は解明されていない。そこで私たち高食塩食負荷に起因するインスリン抵抗性における血管内皮由来ET-1の役割解明を目的に以下の実験を行った。

生後19週齢の血管内皮細胞特異的ET-1欠損 (VEETKO) マウスおよび対照マウスに食塩8%を含有する高食塩食 (HSD) 負荷を3週間行い、その前後での血圧、心拍数、空腹時における血糖、血中インスリン、中性脂肪、遊離脂肪酸値の測定、グルコース負荷およびインスリン負荷テストを実施した。HSD負荷前におけるVEETKOマウスの収縮期血圧は、対照マウスに比較し軽度ではあるが有意に低値であったが、HSD負荷によって両群共に同等の血圧上昇を来し、HSD前後の両群間における血圧差に有意差は認められなかった。また拡張期血圧、心拍数に両群間での有意差やHSD前後での有意な変化は認めなかった。HSD負荷前後における経腹腔内投与によるグルコース負荷テストでは、HSD負荷により対照マウスではグルコースクリアランスの低下を認めたものの、VEETKOマウスでは対照マウスに比較し有意な改善が確認された。血中インスリン値はHSD負荷により両群共に優位に同等な増加を示し、グルコースクリアランスの差にインスリン分泌量の関与は否定的であった。さらにインスリン感受性を評価する目的でインスリン負荷テストを行ったところ、HSD負荷後におけるインスリン投与後の血糖値は対照マウスに比較しVEETKOマウスで有意に低値を呈し、インスリン感受性が対照マウスに比較し有意に維持されていることが判明した。また体重、遊離脂肪酸値はHSD負荷前後で有意な変化は認めず、中性脂肪値はHSD負荷により軽度低下を認めたがいずれも両群間での有意差は認められなかった。次にインスリン抵抗性の病態に重要な役割を担うアディポサイトカインであるTNF- α とアディポネクチンの血中レベルの測定を行った。負荷前は両値ともに両群間での差は認められなかった。HSD負荷により血中TNF- α 値は両群共に著明な増加を認めたものの、VEETKOマウスの血中レベルは対照マウスに比較し有意に低値であった。一方インスリン感受性の維持に寄与するアディポネクチンの血中レベルは、HSD負荷後の対照マウスにおいて有意な低下を認めたが、VEETKOマウスでは維持されていた。

以上の実験より私たちは血管内皮細胞由来ET-1の遺伝的欠損マウスにおいて、高

食塩食負荷に起因するインスリン抵抗性に対する抑制効果を報告した。負荷前における VEETKO マウスの収縮期血圧が対照群に比べ低値であることは、血管内皮由来 ET-1 が基本的な血管トーンに寄与し血圧調節を行っていることを示唆しているが、高食塩食負荷による血圧上昇に関しては両群間で有意差を認めないことより、血管内皮由来 ET-1 の関与が乏しいことを同時に示唆する。この結果は、集合管特異的 ET-1 欠損マウスが食塩感受性高血圧を呈することに基づき、集合管由来 ET-1 が Na 排泄に寄与し血圧調節を担っていると結論づけた過去の報告と矛盾しない結果である。また今回報告した VEETKO マウスにおけるインスリン感受性が対照群に比較して維持されている点は、グルコースクリアランスの差より説明しうる結果である。これまでに ET-1 のインスリン抵抗性への関与について、インスリン受容体やグルコース輸送能、脂肪組織におけるシグナル伝達異常に関与する説が複数報告されている。近年、脂肪組織が内分泌臓器の一つであると認識されており、脂肪組織ではレプチン、アディポネクチン、TNF- α 、MCP-1、IL-6、PAI-1 などアディポサイトカインと総称されるペプチドや蛋白が分泌されていることが明らかにされている。これらのアディポサイトカインには、アディポネクチンなどのように抗炎症作用やインスリン感受性維持に関与するものと、TNF- α や IL-6 のように炎症反応やインスリン抵抗性惹起に関与し肥満患者やメタボリック症候群患者において血中レベルの上昇を認めるものがあり、これらのバランスがインスリン感受性に関与すると考えられている。今回の実験では、ET-1 欠損により高食塩食負荷に起因する血中 TNF- α 上昇およびアディポネクチンの低下が抑制されており、脂肪組織におけるシグナル伝達がインスリン感受性の維持に働き、高食塩食負荷によるインスリン抵抗性の誘導抑制につながったと考察される。しかしながら今回の病態モデルにおける TNF- α やアディポネクチンの調節機構の詳細な分子的機序は明らかになっておらず、さらなる検討が必要であると考ええる。

今回の実験より血管内皮細胞由来 ET-1 が高食塩食負荷に起因するインスリン抵抗性の惹起に重要な役割を担っており、その機序の一つとして脂肪組織におけるシグナル伝達調整の関与が示唆された。またこの結果により ET-1 系シグナルの遮断が、高食塩食由来のインスリン抵抗性の予防に有用な役割を担う可能性が期待される。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2109号	氏 名	岩佐尚子
論文題目 Title of Dissertation	Knockout of Endothelin-1 in Vascular Endothelial Cells Protects Against Insulin Resistance Induced by High-Salt Diet in Mice (血管内皮細胞由来エンドセリン-1欠損マウスにおける 高食塩食負荷インスリン抵抗性の誘導抑制)		
審査委員 Examiner	主 査 久野高義 Chief Examiner 副 査 松尾雅夫 Vice-examiner 副 査 中村俊一 Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

インスリン抵抗性は2型糖尿病や心血管病のハイリスク患者を同定する上で重要とされるメタボリック症候群の進行に重大な役割を担うとされている。一方、エンドセリン-1 (ET-1) は主として血管内皮細胞由来で血管平滑筋細胞における血管収縮作用をもつペプチドであり、ET-1 および 2 種類の受容体 (ET_A および ET_B) は脂肪組織を含めた様々な組織での発現が報告されている。これまでに肥満および高血圧患者のインスリン抵抗性の進展に血中 ET-1 の上昇の関与が報告されているが、その機序は解明されていない。そこで申請者らは高食塩食負荷に起因するインスリン抵抗性における血管内皮由来 ET-1 の役割解明を目的に以下の実験を行った。

生後 19 週齢の血管内皮細胞特異的 ET-1 欠損 (VEETKO) マウスおよび対照マウスに食塩 8% を含有する高食塩食 (HSD) 負荷を 3 週間行い、その前後での血圧、心拍数、空腹時における血糖、血中インスリン、中性脂肪、遊離脂肪酸値の測定、グルコース負荷およびインスリン負荷テストを実施した。HSD 負荷前における VEETKO マウスの収縮期血圧は、対照マウスに比較し軽度ではあるが有意に低値であったが、HSD 負荷によって両群共に同等の血圧上昇を来し、HSD 前後の両群間における血圧差に有意差は認められなかった。また拡張期血圧、心拍数に両群間での有意差や HSD 前後での有意な変化は認めなかった。HSD 負荷前後における経腹腔内投与によるグルコース負荷テストでは、HSD 負荷により対照マウスではグルコースクリアランスの低下を認めたものの、VEETKO マウスでは対照マウスに比較し有意な改善が確認された。血中インスリン値は HSD 負荷により両群共に有意に同等な増加を示し、グルコースクリアランスの差にインスリン分泌量の関与は否定的であった。さらにインスリン感受性を評価する目的でインスリン負荷テストを行ったところ、HSD 負荷後におけるインスリン投与後の血糖値は対照マウスに比較し VEETKO マウスで有意に低値を呈し、インスリン感受性が対照マウスに比較し有意に維持されていることが判明した。また体重、遊離脂肪酸値は HSD 負荷前後で有意な変化は認めず、中性脂肪値は HSD 負荷により軽度低下を認めたがいずれも両群間での有意差は認められなかった。次にインスリン抵抗性の病態に重要な役割を担うアディポサイトカインである TNF- α とアディポネクチンの血中レベルの測定を行った。負荷前は両値ともに両群間での差は認められなかった。HSD 負荷により血中 TNF- α 値は両群共に著明な増加を認めたものの、VEETKO マウスの血中レベルは対照マウスに比較し有意に低値であった。一方インスリン感受性の維持に寄与するアディポネクチンの血中レベルは、HSD 負荷後の対照マウスにおいて有意な低下を認めたが、VEETKO マウスでは維持されていた。

以上の実験より申請者らは血管内皮細胞由来 ET-1 の遺伝的欠損マウスにおいて、高食塩食負荷に起因するインスリン抵抗性に対する抑制効果を報告した。負荷前における VEETKO マウスの収縮期血圧が対照群に比べ低値であることは、血管内皮由来 ET-1 が基本的な血管トーンに寄与し血圧調節を行っていることを示唆しているが、高食塩食負荷による血圧上昇に関しては両群間で有意差を認めないことより、血管内皮由来 ET-1 の関与が乏しいことを同時に示唆する。この結果は、集合管特異的 ET-1 欠損マウスが食塩感受性高血圧を呈することに基づき、集合管由来 ET-1 が Na 排泄に寄与し血圧調節を担っていると結論づけた過去の報告と矛盾しない結果である。また今回報告した VEETKO マウスにおけるインスリン感受性が対照群に比較して維持されている点は、グルコースクリアランスの差より説明しうる結果である。これまでも ET-1 のインスリン抵抗性への関与について、インスリン受容体やグルコース輸送能、脂肪組織におけるシグナル伝達異常に関与

する説が複数報告されている。近年、脂肪組織が内分泌臓器の一つであると認識されており、脂肪組織ではレプチン、アディポネクチン、TNF- α 、MCP-1、IL-6、PAI-1 などアディポサイトカインと総称されるペプチドや蛋白が分泌されていることが明らかにされている。これらのアディポサイトカインには、アディポネクチンなどのように抗炎症作用やインスリン感受性維持に関与するものと、TNF- α やIL-6のように炎症反応やインスリン抵抗性惹起に関与し肥満患者やメタボリック症候群患者において血中レベルの上昇を認めるものがあり、これらのバランスがインスリン感受性に関与すると考えられている。今回の実験では、ET-1 欠損により高食塩食負荷に起因する血中TNF- α 上昇およびアディポネクチンの低下が抑制されており、脂肪組織におけるシグナル伝達がインスリン感受性の維持に働き、高食塩食負荷によるインスリン抵抗性の誘導抑制につながったと考察される。しかしながら今回の病態モデルにおける TNF- α やアディポネクチンの調節機構の詳細な分子的機序は明らかになっておらず、さらなる検討が必要であると考ええる。

今回の実験より血管内皮細胞由来 ET-1 が高食塩食負荷に起因するインスリン抵抗性の惹起に重要な役割を担っており、その機序の一つとして脂肪組織におけるシグナル伝達調整の関与が示唆された。またこの結果により ET-1 系シグナルの遮断が、高食塩食由来のインスリン抵抗性の予防に有用な役割を担う可能性が期待される。

本研究は、血管内皮由来 ET-1 のインスリン抵抗性における役割を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった血管内皮細胞特異的 ET-1 欠損 (VEETKO) マウスを用いた実験によって、ET-1 がインスリン抵抗性にプラスに働いており、ET-1 系シグナルの遮断が、高食塩食由来のインスリン抵抗性の予防に有用な役割を担う可能性を明らかにしたものととして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。