

## 論文の要旨

申請者 佐藤 篤志

### 研究論文題目

マウス肥満モデルにおける血管内皮の Extracellular Signal-Regulated Kinase 2 (ERK2) が血管内皮障害、インスリン抵抗性及び脂肪肝炎に及ぼす影響に関する検討

### 1 目的

肥満及びメタボリックシンドロームはインスリン抵抗性や血管内皮障害を介して2型糖尿病、高血圧、脂肪肝炎、心血管病に強く関与する基礎疾患として非常に重要であるが、治療は対症療法のみしかないのが現状である。

Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) はインスリンシグナル伝達経路における重要な物質であるが、肥満及びメタボリックシンドロームにおける *in vivo* における血管内皮 ERK2 の役割はまだ不明な点が多い。そこで本研究では肥満及びメタボリックシンドロームと血管内皮 ERK2 の関係について検討した。

### 2 対象並びに方法

Cre-loxP システムを利用し、血管内皮特異的 ERK2 ノックアウトマウスを作成した。24週間、通常食 (ND) 及び高ショ糖高脂肪食 (HFHSD) を与えることで4群 (Control-ND、EE2KO-ND、Control-HFHSD、EE2KO-HFHSD) を作成し、糖代謝、肝機能、収縮期血圧及び血管内皮機能について検討を行った。

### 3 成績

Intraperitoneal glucose tolerance test (ipGTT) 及び insulin tolerance test (ITT) より、EE2KO-HFHSD 群では Control-HFHSD 群と比較してインスリン抵抗性が軽度であることが確認できた。

また、alanine aminotransferase (ALT) 及び肝臓内の中性脂肪の増加は EE2KO-HFHSD 群で軽減しており、病理組織学的評価である非アルコール性脂肪肝活動性スコア (NAS)、線維化スコアが低値であったことから、EE2KO-HFHSD 群では脂肪肝炎が軽減することが明らかとなった。

次に血圧について検討した。EE2KO マウスでは収縮期血圧は低く、一酸化窒素 (NO) の代謝産物である  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  濃度は高値であった。また、NO 合成酵

素である eNOS の阻害薬 L-NAME を投与すると、EE2KO-HFHSD 群の収縮期血圧が Control-HFHSD 群と同等まで上昇したことから、EE2KO-HFHSD 群において NO 産生の増加が収縮期血圧を低下させていたことが確認できた。

また、内皮依存性血管拡張反応より EE2KO-HFHSD 群では血管内皮機能障害が軽減することが明らかとなった。

血管におけるスーパーオキシド ( $O_2^{\cdot-}$ ) 産生を dihydroethidium (DHE) 染色にて評価すると、EE2KO-HFHSD 群の  $O_2^{\cdot-}$  産生は低下していた。 $O_2^{\cdot-}$  による NO 不活性化及び合成阻害が抑えられ、NO の生物学的利用能が保たれていると考えられた。

Control-HFHSD 群から得た摘出血管片に ERK の上流の阻害薬である MEK 阻害薬及び下流の阻害薬である endothelin A 受容体阻害薬、thromboxane A プロスタノイド (TP) 受容体阻害薬 (S18886) を投与し、内皮依存性血管拡張反応を評価したところ、MEK 阻害薬及び S18886 を投与した群では血管拡張能が改善を認めた。同様に MEK 阻害薬及び S18886 の投与により  $O_2^{\cdot-}$  産生の抑制が観察された。このことより MEK/ERK2/TP 受容体経路が  $O_2^{\cdot-}$  産生を増加させ、血管内皮機能障害に関与していることが明らかとなった。

さらに S18886 を Control-HFHSD 群に経口投与すると、S18886 投与群で収縮期血圧の低下、血管内皮機能改善、およびインスリン抵抗性 (HOMA-IR) の改善が認められた。また、NAS 及び線維化の改善も認め、脂肪肝炎は軽減した。これらよりマウス肥満モデルにおいて TP 受容体阻害が血管内皮機能、高血圧、糖代謝及び脂肪肝炎を改善することが明らかとなった。

#### 4 考 察

血管拡張物質である NO はインスリンシグナル伝達経路の PI3K/AKT/eNOS 経路によって産生され、インスリン抵抗性の進展に伴いこの経路が障害され、NO が低下すると考えられている。本研究ではもう一つのインスリンシグナル経路である MEK/ERK2/TP 受容体経路が、 $O_2^{\cdot-}$  産生が増加することで NO の生理活性が低下することを明らかにした。また、S18886 を経口摂取することでこの経路が阻害され、肥満及びメタボリックシンドロームで認められるインスリン抵抗性、脂肪肝炎、高血圧が改善することが確認できた。TP 受容体を阻害することで、各臓器で改善を認めたことから、肥満及びメタボリックシンドロームにおいて MEK/ERK2/TP 受容体経路が代謝・血管障害に重要な役割を果たしていることが予想された。

## 5 結 論

マウス肥満モデルである HFHSD 負荷マウスにおいて、血管内皮細胞における MEK/ERK2/TP 受容体経路の活性化は  $O_2^{\cdot-}$  産生を増加させ、インスリン抵抗性、収縮期血圧、血管内皮機能及び脂肪肝炎を悪化させた。また、S18886 を用いた TP 受容体阻害によりインスリン抵抗性、収縮期血圧、血管内皮機能及び脂肪肝炎が改善した。血管内皮 ERK2/TP 受容体経路は肥満及びメタボリックシンドロームにおける治療標的となる可能性を秘めており、今後の新たな治療戦略となりうると考えられた。