

## Beraprost sodium, a stable prostacyclin analogue, improves insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice

井上, 恵利子

<https://hdl.handle.net/2324/1441090>

---

出版情報：九州大学, 2013, 博士（医学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏 名：井上 恵利子

論文題名：Beraprost sodium, a stable prostacyclin analogue, improves insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice

(プロスタサイクリン誘導体であるベラプロストナトリウムは高脂肪食負荷による肥満マウスのインスリン抵抗性を改善する)

区 分：甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【諸言】

肥満はインスリン抵抗性、脂質代謝異常、高血圧などのリスクファクターの集積であるメタボリックシンドロームを進展させる中心的な役割を担っている。今まで、皮下脂肪よりむしろ内臓脂肪がインスリン抵抗性を高めると考えられてきた。肥満により脂肪細胞の肥大化や数の増加が生じ、過剰な脂質が肝臓や筋肉に異所性の中性脂肪沈着を生じることが、インスリン抵抗性の原因の一つとなる。肥大化した脂肪細胞は肥満が進行するに従って MCP1 や TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインを産生するようになる。これらのいわゆるアディポカインと呼ばれるサイトカインが誘導する炎症や、マクロファージの脂肪組織への浸潤は、肥満が原因のインスリン抵抗性のもうひとつの重要なメカニズムである。浸潤したマクロファージは脂肪組織における炎症を強めこれらの過程が悪循環を引き起こす。

ベラプロストナトリウム(BPS)は安定なプロスタグランジン I<sub>2</sub> 誘導体であり、プロスタサイクリン受容体の活性化を通して強力な血管拡張作用を持っている。また BPS には、抗炎症作用も報告されている。私は BPS の抗炎症効果が肥満によって誘導されるインスリン抵抗性の改善にとって有益であるのではないかという仮説をたて、それについて調べた。

### 【方法】

マウスは普通餌を 12 週間食べさせた群 (コントロール群)、総カロリーの 60%を脂質が占める高脂肪食を 12 週間食べさせた群 (HFD 群)、高脂肪食を食べさせながら BPS を 12 週間経口投与した群(BPS 群) の 3 群に分け比較検討した。BPS はその半減期が短いことより (1 時間以内) 1.5  $\mu$ g/ml の濃度で水に溶解し自由に経口摂取させた。マウスの収縮期血圧と心拍数はテールカフ法にて測定した。脂肪組織のパラフィン切片はヘマトキシリンエオジン染色を行った。各脂肪細胞の断面の面積はダイナミックセルカウント BZ-HIC によって解析した。マクロファージの浸潤の検出はパラフィン切片を MAC3(LAMP2)抗体で染色した。肝臓の構造と脂質の沈着を評価にはヘマトキシリンエオジン染色を行った。肝臓内の脂質集積の定量評価は切片の画像をコンピュータ解析した。画像を白と黒の 2 色化し、白い空隙を脂質滴が集積した空胞化の領域として評価した。耐糖能試験(GTT)は、マウスを 6 時間絶食とした後、グルコース (1g/kg 体重) を腹腔内注射、インスリン負荷試験(ITT)の際は速効型インスリン (0.5IU/kg 体重) を腹腔内

注射した。尾静脈から経時的に採血し、血糖値を測定した。血清中の中性脂肪、総コレステロールの値はトリグリセライドE-テスト、コレステロールEテスト和光を用いて測定した。血清インスリン値はELISAキットにて測定した。脂肪組織における炎症性サイトカイン、脂肪分化マーカー、アディポネクチンの遺伝子発現はリアルタイムRT-qPCRにて評価した。アディポネクチンの血清蛋白値はELISAによって評価した。

#### 【結果】

HFD群はコントロール群に比べて有意に体重の増加を認めたがHFD群とBPS群では有意な差は認められなかった。収縮期血圧はHFD群においてコントロール群と比べると有意な上昇が認められた。BPSはHFD群と比べて収縮期血圧を有意に下げたが、コントロール群と比べると有意に高値であった。総コレステロールと中性脂肪は高脂肪食により有意に上昇を認めた。BPSの投与により総コレステロールと中性脂肪はやや減少を認めた。HFD群では耐糖能が悪化し、インスリン抵抗性が出現した。マウスにBPSを負荷することにより、この両者に改善が認められた。6時間絶食時のBPS群の基礎血糖値はHFD群に比べ有意に低かった。曲線下面積は、BPS投与により糖代謝が改善していることを示した。コントロール群に対してHFD群では、脂肪細胞のサイズの増大が認められた。そしてBPS投与によってそのサイズの縮小が認められた。PPAR $\gamma$ はHFDによって有意に抑制され、BPSの投与によってそれがリバーズされた。C/EBP $\alpha$ やアディポネクチンの発現は、BPS投与による効果は認められなかった。アディポネクチンのmRNAレベルは3群間で差が認められなかったが、血清アディポネクチン値はHFD群とBPS群で軽度減少を認めた。血清アディポネクチン値は3群間に有意な差は認められなかった。白色脂肪組織ではMac3陽性マクロファージの脂肪細胞周囲への集積はコントロール群と比較してHFD群において有意な増加を認めたが、BPS投与によって白色脂肪組織のCLSの数は有意に減少した。HFDによって誘導されたTNF- $\alpha$ とMCP1の発現はBPS投与により有意に抑制されることが示された。肝臓内の脂肪集積はHFD群と比較してBPS群において有意な減少を認めた。

#### 【考察】

私はこの実験の中で、BPSがHFD負荷によって引き起こされたインスリン抵抗性と耐糖能低下を改善することを示した。BPSの投与により、食餌性肥満マウスの白色脂肪組織における炎症性サイトカインの発現、脂肪細胞のサイズ、マクロファージの浸潤が減少した。BPSはまた、PPAR $\gamma$ の発現を軽度増加させた。BPSによるインスリン抵抗性の改善にはTNF- $\alpha$ の減少が一部寄与しているのではないかと考えられた。しかしながら、MCP1の減少のようにBPSの効果は複数あると考えられ、今回のモデルにおいてTNF- $\alpha$ のシグナル経路が特異的に抑制されているかどうか決定することは困難であった。また、BPSはMCP1の発現とマクロファージ浸潤の両方を減少させ、それが耐糖能やインスリン抵抗性の改善につながった可能性が考えられた。また、BPSを投与することによって食餌性肥満マウスの精巣上体上白色脂肪組織の平均的な大きさを縮小させた。それには、BPSによるPPAR $\gamma$ の発現上昇が脂肪細胞の分化促進とインスリン感受性の改善に寄与した可能性がある。加えて、BPSによる血清総コレステロール値と中性脂肪の値の減少がインスリン作用の改善に寄与した可能性も考えられた。炎症は脂肪肝の進行の重要な因子であるという近年の報告があることから、BPSの抗炎症効果が脂肪肝の改善に関係しているとも予想できる。私はこの実験の中で、BPSはHFD負荷によるマウスの

耐糖能を白色脂肪組織における炎症の抑制と脂肪細胞の分化促進を介して改善した可能性があることを示した。BPS は末梢血管病変や肺高血圧症に対する治療だけでなく、インスリン抵抗性を持つ患者での治療においても有効である可能性がある。