

メタボリック症候群における色素上皮由来因子 (pigment epithelium-derived factor) の血管保護作用

中村 和生^{1,2} 松井 孝憲¹ 植田晋一郎² 足達 寿² 今泉 勉² 山岸 昌一¹

要 旨：色素上皮由来因子(pigment epithelium-derived factor；以下 PEDF)は、網膜色素上皮より単離された血管新生抑制作用、抗酸化作用を有する分泌性蛋白で、糖尿病網膜症において血管内皮増殖因子と拮抗作用し、その発症、進展に抑制的に働くことが報告されている。しかしながら、メタボリック症候群や糖尿病などの患者における PEDF の循環動態は明らかでない。そこで今回我々は、PEDF 測定用の ELISA kit を開発し、血中 PEDF 濃度を測定し、その規定因子について検討した。

(J Jpn Coll Angiol, 2010, 50: 65–68)

Key words: metabolic syndrome, PEDF, diabetes

色素上皮由来因子(pigment epithelium-derived factor；以下 PEDF)は、1991 年に網膜色素上皮細胞より分離、精製された蛋白で、これまでに血管を含めた全身の組織で産出、分泌されていること、神経分化作用や酸化ストレスによる神経傷害を抑制することが報告されています。

これまでに我々は、糖尿病血管合併症の発症、進展の主要因とされる後期糖化産物(advanced glycation end products；以下 AGEs)を投与したモデル動物(網膜血管透過性亢進モデル)を用いた検討で、AGEs を投与したモデルでは、網膜における酸化ストレスマーカー、8OHdG の発現が亢進しますが、PEDF の投与により 8OHdG の発現を抑制する事、さらに PEDF は、網膜での NADPH oxidase コンポーネント、p22、gp91 の発現を抑制し、抗酸化的に作用していること、また、糖尿病網膜症の発症、進展に重要である血管内皮増殖因子(以下 VEGF)の発現を抑制することも明らかといたしました。糖尿病網膜症において、AGEs は受容体(receptor for AGEs；以下 RAGE)と結合し、NADPH oxidase 由来の細胞内酸化ストレス(以下；ROS)を亢進させ、転写因子、炎症性サイトカインなどを介して細胞傷害、血管合併症を引き起こします。PEDF はこの NADPH oxidase 由来の ROS を抑制することで、VEGF の

発現抑制などを介して糖尿病網膜症に重要な血管透過性、血管新生を抑制することを明らかとしました(Fig. 1)。

つぎに我々は、血管平滑筋細胞、バルーンカテーテルによる急性血管内皮傷害後血管内腔狭窄モデル(以下；BI モデル)における PEDF の効果を検討いたしました。血管平滑筋細胞を用いた *in vitro* の検討では、ジヒドロエチジウム染色法により、血小板由来増殖因子(以下；PDGF-BB)刺激による ROS の産出亢進を PEDF が抑制し得ること、チミジン増殖 assay により、PDGF-BB 刺激による血管平滑筋細胞の増殖を PEDF が抑制すること、ポイデンチャンバーを用いた遊走 assay においても、PDGF-BB による血管平滑筋細胞の遊走亢進を PEDF が抑制することを明らかとしました。

バルーン傷害後の血管内腔狭窄には、血管平滑筋細胞の遊走、増殖、ROS の産出亢進が重要であるとされていることから、BI モデル動物における PEDF の効果について検討いたしました。

まず、BI モデル動物における PEDF の発現の変化について検討いたしました。血管傷害後、PEDF の血管における発現量は低下します。従って、抗酸化作用を有する PEDF の血管での発現低下がバルーン傷害後の血管狭窄のメカニズムの一因ではないかと仮定し、傷害部位に

¹久留米大学医学部糖尿病性血管合併症病態・治療学講座

²久留米大学医学部心臓・血管内科

2009 年 3 月 31 日受理

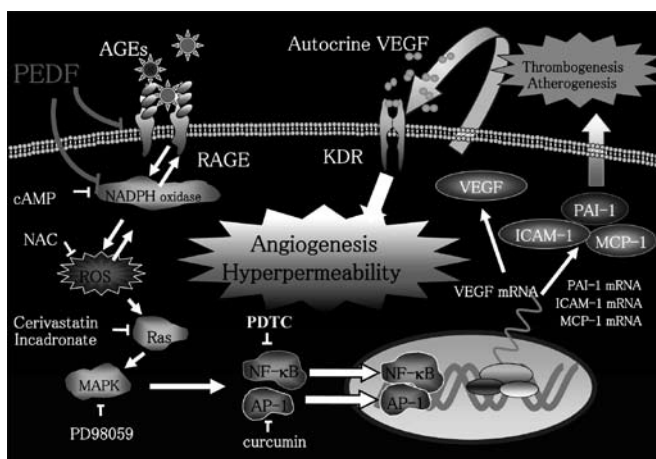


Figure 1 PEDF inhibits diabetic vascular complications.

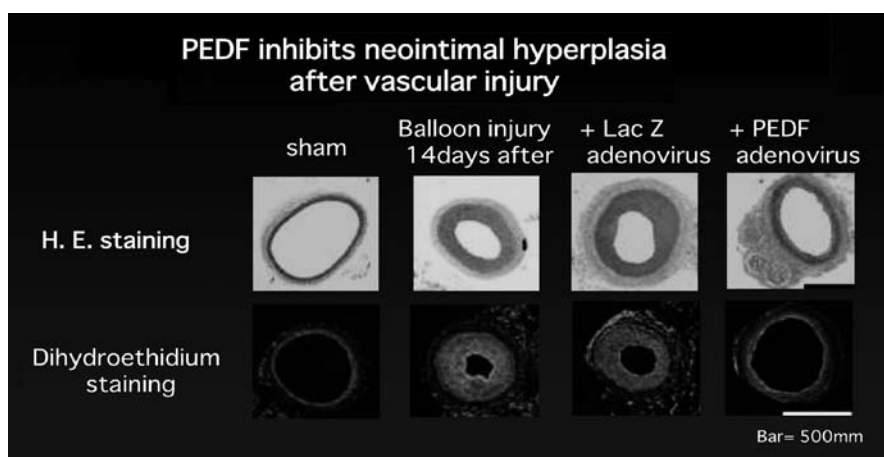


Figure 2 PEDF inhibits neointimal hyperplasia after vascular injury.

PEDF 発現 adenovirus を用いて PEDF を過剰発現させて評価、検討いたしました。Fig. 2 に示します通り、バルーン傷害群と比較して、PEDF 群ではバルーン傷害後の ROS の産出を低下させ、血管内腔狭窄を抑制できることを明らかにしました。

さらに、血管透過性亢進モデルと同様、PEDF 発現群では、NADPH オキシダーゼのコンポーネントである p22, gp91 の傷害部位での発現を抑制していることから、BI モデルでも、PEDF は NADPH オキシダーゼ由来の ROS の産出亢進による血管平滑筋細胞の増殖、遊走を抑制し、血管狭窄を抑制した事が機序として考えられました。さら

に PEDF は cyclin D, cyclin E といった細胞周期に関連する G1 cyclin の発現も抑制していました。

しかし PEDF が血中を循環しているか否か、どのような動態をしているかについては明らかではありません。そこで我々は、血中 PEDF 測定 ELISA kit を開発し、一般住人検診(196 名)において PEDF 血中濃度を測定しました。興味深い事に PEDF は、血中を約 15 $\mu\text{g/ml}$ で循環し、性差のある蛋白であることが分かりました。測定前には、抗酸化活性を有する PEDF の血中濃度がメタボリック症候群などの病態に応じて低下していることを予想していましたが、予想に反し、中性脂肪、腹囲などの

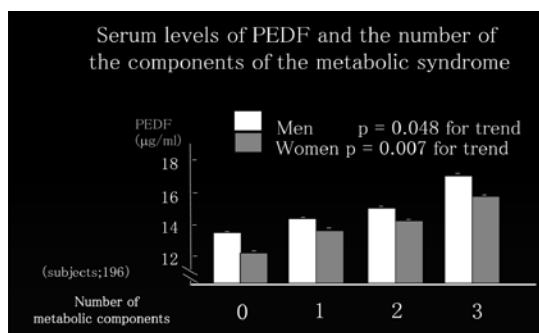


Figure 3 Serum levels of PEDF and the number of the components of the metabolic syndrome.

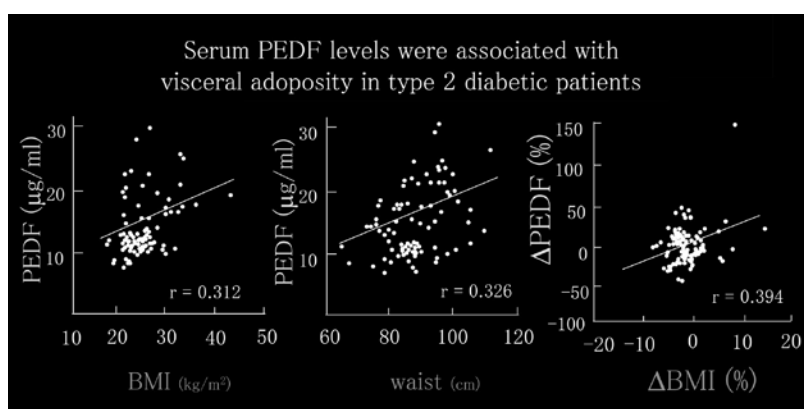


Figure 4 Serum PEDF levels were associated with visceral adiposity in type 2 diabetic patients.

メタボリックコンポーネントの数が増えるにつれて PEDF の血中濃度が上昇していることが明らかとなりました (Fig. 3)。

さらに2型糖尿病患者86名についての PEDF 血中濃度を測定し、検討いたしました。PEDF 血中濃度の規定因子は BMI、腹囲であり、また同患者の1年間の follow up によると、血中 PEDF 濃度の変化率と BMI の変化率は最も強く関連していました (Fig. 4)。どうやら、血中 PEDF は内臓脂肪により分泌、調節されていると示唆されました。

そこでコマーシャルの脂肪組織を用いて PEDF の m-RNA 発現量を realtime PCR 法により検討いたしました。Fig. 5 に示されますように、BMI が増加するにつれて PEDF の発現量が増加していました。特に内臓脂肪組織での PEDF の発現量が多いことも明らかとなりました。

以上からまとめると、血管などの組織では、BI モデル、

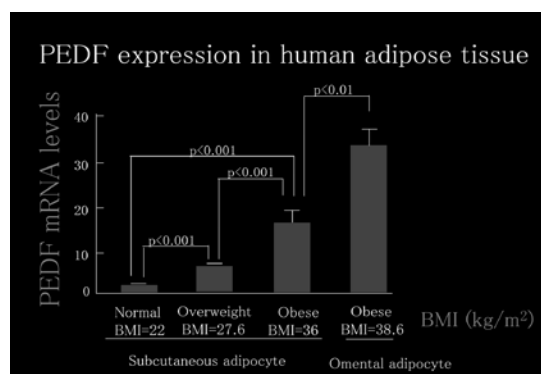


Figure 5 PEDF expression in human adipose tissue.

糖尿病網膜症などに示されるように、傷害により組織での PEDF の発現が低下し、血管狭窄、血管合併症が発症、進展すること、メタボリック症候群ではメタボリックコン

ポーネントの数、また主に内臓脂肪の量により PEDF の血中濃度が上昇してくることが明らかとなりました。この両者の関係には、PEDF の抵抗性があるのか、代償性の分泌があるのかははまだ明らかではありません。しかし、糖尿病モデル動物、インスリン抵抗性モデル動物に

PEDF を投与すると糖尿病、インスリン抵抗性が改善する事から(投稿中)、PEDF は保護的、代償的に主に腹腔内脂肪より分泌されていると考えられます。今後は PEDF の受容体、細胞内伝達などの機序を明らかにし、臨床応用を視野に研究を展開したいと考えています。

Vasculoprotective Properties of Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF) in the Metabolic Syndrome

Kazuo Nakamura,^{1,2} Takanori Matsui,¹ Shin-ichiro Ueda,² Hisashi Adachi,² Tsutomu Imaizumi,² and Sho-ichi Yamagishi¹

¹Department of Pathophysiology and Therapeutics of Diabetic Vascular Complications, Kurume University School of Medicine, Fukuoka, Japan

²Department of Internal Medicine, Division of Cardio-Vascular Medicine, Kurume University School of Medicine, Fukuoka, Japan

Key words: metabolic syndrome, PEDF, diabetes

Pigment epithelium-derived factor (PEDF), a glycoprotein that belongs to the superfamily of serine protease inhibitors, was first purified from conditioned media of human pigment epithelium cells. Recently we, along with others, have found that PEDF has multipotent activities both in cell culture and animal models. Indeed, PEDF was reported to inhibit endothelial cell growth and migration in vitro and to suppress ischemia-induced retinal neovascularization in animal models. Further, PEDF has been shown not only to block neointimal formation after balloon angioplasty, but also to inhibit occlusive thrombus formation in rats via its anti-oxidative capacity. However, the kinetics and regulation of PEDF in the metabolic syndrome and type 2 diabetes is largely unknown. In this study, we developed a specific ELISA system for human PEDF and then examined whether and how serum PEDF levels were associated with coronary risk factors in patients with the metabolic syndrome and / or type 2 diabetes. (J Jpn Coll Angiol, 2010, **50**: 65–68)