

## 論文の内容の要旨

論文題目           Angiopoietin-related growth factor (AGF) の  
                          発見と生理機能に関する研究

氏名                   安永邦夫

### 研究の背景と目的

ヒト遺伝子配列の網羅的な解読が進み、新規遺伝子の発見機会が増大した。新規遺伝子の生理機能を解明して、疾患との関連性を見出すことで独創的な創薬研究が進む。血管新生は、癌や網膜症などの種々の疾患の発症や増悪に関与し、血管新生を制御することが疾患の治療につながると考えられている。血管新生因子のアンジオポエチンや VEGF は、生理機能解明が進み、疾患の治療薬を目指した研究が行われている。これらに続く、新たな血管新生因子の発見と創薬への応用が求められている。

そこで、アンジオポエチンと相同性を持つ新規因子をヒト遺伝子配列データベースから発見し、新規因子の生理機能を解明して病態との関連性を発見し、創薬への応用の可能性を見出すことを研究目的とした。

### AGF の発見と血管新生活性の解析

アンジオポエチンは coiled-coil ドメインと Fibrinogen 様ドメインという特徴的な構造を持っている。配列データベースを利用して、アンジオポエチンと相同性があり、この特徴的なドメイン構造を有する新規遺伝子、Angiopoietin-related growth factor (AGF)/Angpt16 を発見し、クローニングした。アンジオポエチンファミリーと

は異なり、AGFはAngpt1 (Angiopoietin-like factor) ファミリーという、リガンド未知の新しい分子ファミリーに属していた。AGFは肝臓と血液細胞で発現して血液中に存在する分泌蛋白質であった。

AGFはアンジオポエチンと相同性が高いことから血管新生活性を持っている事が期待されたので、K14プロモーターを用いて表皮細胞にAGFを過剰発現させたマウスを作製し (K14-AGF Tg マウス)、血管新生に関する表現型を解析した。K14-AGF Tg マウスは、表皮組織で毛細血管の数が増加していて血管新生が亢進していたことから、予想通りAGFに血管新生活性がある事が示された。AGF精製蛋白を用いた解析で、AGFには血管内皮細胞遊走活性と血管透過性亢進活性があり、アンジオポエチンやVEGFとは性質が異なる血管新生因子であることが示された。

### AGFの創傷治癒促進活性

表皮細胞にAGFを高発現させたK14-AGF Tg マウスを詳細に解析した結果、表皮組織では、血管新生が促進されるだけでなく、表皮細胞が顕著に増殖して表皮組織が肥厚するという、予期しない表現型が発見された。AGFが表皮細胞を増殖することが示され、アンジオポエチンやAGF以外のAngpt1ファミリー分子には無いAGFに特異的な活性が発見された。更にK14-AGF Tg マウスでは、AGFが高発現している耳の皮膚組織で創傷治癒及び組織再生が促進され、通常は永久に塞がらない耳パンチの穴が約1ヶ月で塞がること示された。AGFの皮膚組織での新しい機能を発見し、AGFが創傷治癒促進剤として医療に活用できる可能性を見出した。

### AGFの抗肥満・抗糖尿病作用

AGFには血管新生活性と創傷治癒促進活性があることが示されたので、次にAGFの生理的な機能を確認するために、AGF遺伝子欠損マウスを作製してその表現型を解析した。AGFホモ欠損マウスは80%の個体が胚致死となり、胚での血管新生に欠陥があった。このことより、血管新生活性はAGFの機能として生理的に重要であることが示された。生誕したAGFホモ欠損マウスの飼育を続けたところ、予期していなかったことに同腹のワイルドタイプマウスと比べて顕著に体重が増加した (図1)。CAGプロモーターを用いて全身にAGFを高発現するトランスジェニックマウス (CAG-AGF Tg マウス) はAGFホモ欠損マウスとは反対に、脂肪組織重量が減少して体重が低下したことから、AGFには脂質代謝を改善して脂肪組織重量減少を伴う抗肥満作用があることが発見された。

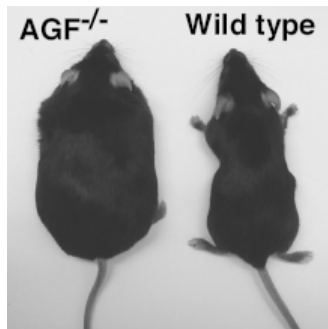


図1 AGF ホモ欠損マウスの表現型

6ヶ月齢の、AGF ホモ欠損マウス (AGF<sup>-/-</sup>) 及びリターメイト WT マウス (Wild type) の外観。

AGF と相同性を持つ、アンジオポエチンや Angpt1 ファミリー分子の機能からは、AGF に抗肥満作用があることは全く予想できなかった。肥満や糖尿病などの生活習慣病が大きな社会問題となっている現代社会では、これらの治療薬が強く求められている。そこで、肥満、及び肥満と関係の深い糖尿病と AGF との関連性について、詳細に解析を進めた。

AGF ホモ欠損マウスでは、耐糖能異常とインスリン感受性低下が起きており、反対に CAG-AGF Tg マウスでは耐糖能が改善しインスリン感受性が亢進している事が示され、AGF は脂質代謝改善に加えて糖代謝改善作用があることが判り、AGF が抗肥満薬に加えて抗糖尿病薬となる可能性があることを発見した。

AGF が脂質代謝と糖代謝において顕著な作用を持つ事が判ったので、次に AGF の作用メカニズムを解析した。AGF 遺伝子改変マウスは摂餌量の変化は無かったが、全身の酸素消費量が AGF ホモ欠損マウスでは減少し、CAG-AGF Tg マウスでは増加していた事からエネルギー消費量が変化していることが示された。エネルギー消費に中心的な役割を担う骨格筋と褐色脂肪組織で、エネルギー消費に関連している遺伝子である PPARs、PGCs、UCPs の遺伝子発現量が AGF ホモ欠損マウスでは減少し、CAG-AGF Tg マウスでは増加していた。また、AGF 蛋白質が骨格筋細胞に結合してシグナルを伝達する事を見出し、骨格筋が AGF 作用臓器の一つである事が示された。これらの事から、エネルギー消費を亢進することが、AGF の作用メカニズムの一つである事が示された。

最後に、AGF の抗肥満薬、及び抗糖尿病薬としての可能性を検討した。長期間の高脂肪食負荷を行い、肥満及び糖尿病状態にさせたモデルマウスに、AGF を発現させるウイルスを投与して AGF による治療効果を検証した。その結果、病体モデルマウスに

AGF を高発現させることで体重が減少し、耐糖能が改善しインスリン感受性が亢進することが判り、AGF に肥満と糖尿病の治療効果があることが明らかとなった。

### 今後の展望

新規遺伝子 AGF を発見して機能解析を進めた結果、当初予想していた血管新生活性に加えて、創傷治癒促進活性と、抗肥満・抗糖尿病活性があることを発見した。特に、抗肥満、抗糖尿病の活性に関して、遺伝子改変マウスを用いて詳細に解析を行い、AGF と疾患の関連性を明確にした。AGF 蛋白や、AGF の機能亢進剤が、抗肥満薬・抗糖尿病薬としてのポテンシャルがあることを見出したため、今後創薬を目指した AGF 関連研究が進展することが期待される。AGF の抗肥満・抗糖尿病活性の作用メカニズムとして、エネルギー代謝亢進が関連していることを明らかにした。AGF レセプターが同定されて機能解明が行われることで、より詳細な作用メカニズム解明が期待される。