

脂肪融解タンパク質 AIM によるメタボリックシンドローム制御の研究

東京大学大学院 医学系研究科 疾患生命工学センター
分子病態医科学部門
新井 郷子

1. はじめに

メタボリックシンドロームは、近年の食習慣を中心とする生活環境の変化に伴い急速に表面化した現代病である。通常、肥満の進行がインスリン抵抗性を惹起し、続いて2型糖尿病や動脈硬化性疾患等の様々な制御困難な疾患群がドミノ倒しの様に発症するが、これら症状は本人の自覚の無いままに水面下で進行し、表面化する頃には急激に死の危険性が高まることから、深刻な社会問題となっている。近年、肥満からこれらの疾患の根幹を成すインスリン抵抗性獲得に至る過程における最も重要な引き金は、内臓脂肪の慢性持続性炎症であることが明らかになった。すなわち、肥満になっても、慢性炎症の誘発を予防・抑制することができれば、その先への疾患連鎖を遮断することが可能になると予測できる。しかしながら、肥満脂肪組織において慢性炎症を誘起するその根本となる分子メカニズムは明らかにされていなかった。

最近、我々は、肥満の進行に伴い、マクロファージが分泌するタンパク質 AIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophage) の血中濃度が急激に上昇し、肥満脂肪細胞において脂肪分解 (lipolysis) を誘導することを見出した (参考論文)。実際に、肥満を誘導した AIM^{-/-}マウスでは AIM による lipolysis が起こらないために、AIM^{+/+}マウスと比較して内臓脂肪の蓄積が多く、より肥満した。しかしながら、興味深いことに、AIM^{-/-}マウスの脂肪組織内のマクロファージの数は AIM^{+/+}マウスより著しく少なかった (発表論文)。このことから、我々は、体内 AIM 濃度の上昇により起こる脂肪組織での lipolysis がマクロファージを脂肪組織に遊走するのではないかと、という仮説を立てた。本研究では、この仮説を立証し、(1) AIM による肥満脂肪組織における慢性炎症誘起のメカニズムを明らかにし、(2) 肥満脂肪組織における慢性炎症の予防・抑制によるメタボリックシンドロームの進行の制御を達成することを目的として行った。

2. 方法

(1) AIM による肥満脂肪組織における慢性炎症誘起のメカニズムの解明

脂肪組織は肥満の進行に伴い多数のマクロファージが浸潤することで炎症性変化を来すことが知られているが、これまで、その根本となる生理的メカニズムは明らかになっていなかった。AIM は肥満脂肪細胞に取り込まれると脂肪酸合成酵素 (FAS: fatty acid synthase) に結合し、酵素活性を抑制することで lipolysis を誘導するが、AIM^{-/-}マウスの肥満脂肪組織においてはマクロファージの浸潤が著しく軽減していたことから、肥満脂肪細胞による AIM の取り込みによる lipolysis がマクロファージの浸潤を引き起こす可能性が示唆された。そこで、肥満脂肪組織における AIM を介した炎症性変化のメカニズムを明らかにするために、以下の項目を検討した。

(1-a) 脂肪細胞による AIM の取り込みが誘導する lipolysis によるマクロファージの遊走の検討
脂肪細胞が AIM を取り込むことで起こる lipolysis がマクロファージの遊走を誘導するか、*in vitro* で検証する。具体的には、3T3-L1 脂肪細胞に AIM を取り込ませて lipolysis を誘導させた培養上清を用いて、脂肪細胞において (i) ケモカイン産生を誘導するかどうか、また (ii) マクロファージ遊走を誘導するかどうかについて検討した

(1-b) 肥満脂肪細胞による AIM の取り込みによるマクロファージ浸潤の検討
肥満 AIM^{-/-}マウスに AIM を投与することで、脂肪組織にマクロファージ浸潤が誘導できるかどうか *in vivo* で検討した。

(2) 肥満脂肪組織における慢性炎症の予防・抑制によるメタボリックシンドロームの進行の制御

(2-a) AIM 欠損による正常なインスリン反応性維持の可能性の検討

AIM^{-/-}マウスの肥満脂肪組織においてマクロファージ浸潤が著しく軽減されていることから、脂肪組織および全身の炎症状態について炎症性サイトカイン産生を解析した。さらに、肥満 AIM^{-/-}マウスでは炎症状態が緩和されることで、正常なインスリン感受性が保たれている可能性が考えられるため、肥満 AIM^{-/-}マウスと AIM^{+/+}マウスにおけるインスリン感受性を比較した。

(3) AIM 中和抗体の作製

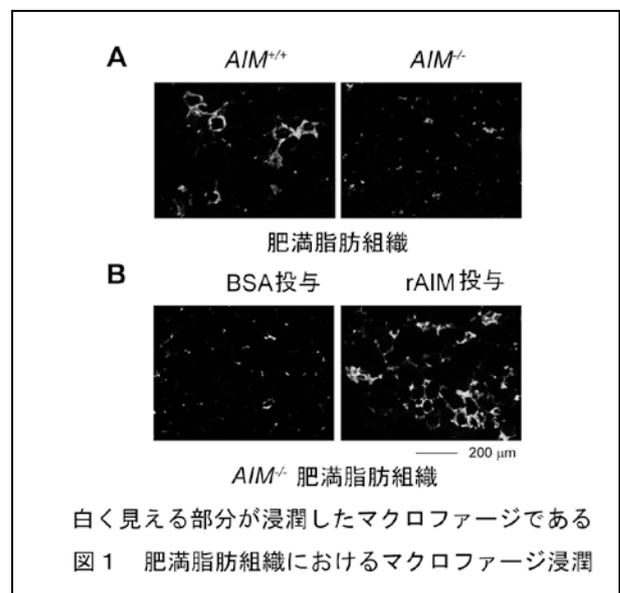
これらの結果から、肥満脂肪組織では AIM による脂肪細胞の lipolysis によってマクロファージ浸潤が誘導され、慢性炎症およびそれによるインスリン抵抗性惹起の原因になることが予想される。そこで、AIM の機能を阻害するような低分子化合物や中和抗体を探索・作製した。

3. 結果

(1) AIM による肥満脂肪組織における慢性炎症誘起のメカニズムの解明

3T3-L1 脂肪細胞に精製 AIM タンパク質 (recombinant AIM: rAIM) を添加した上清を用いて、マクロファージ遊走能の有無およびそのメカニズムについて検討した。その結果、AIM が脂肪細胞に取り込まれることによって誘導される lipolysis により、中性脂肪が分解されて遊離脂肪酸が放出され、それによって脂肪細胞の TLR4 が刺激されることで、MCP-1 や CCL5 といったケモカイン類の発現誘導が行われることが判明した。

実際に in vivo においては、高脂肪食を 12 週間与えた野生型肥満マウスの脂肪組織には多くの炎症性マクロファージが浸潤しているが、同様の処置をした肥満 AIM^{-/-}マウスの脂肪組織における炎症正マクロファージの浸潤は著しく軽減されていた。また、高脂肪食を負荷した AIM^{-/-}マウスに rAIM を投与すると、マクロファージの浸潤が再構成された。



白く見える部分が浸潤したマクロファージである
図1 肥満脂肪組織におけるマクロファージ浸潤

(2) 肥満脂肪組織における慢性炎症の予防・抑制によるメタボリックシンドロームの進行の制御

内臓脂肪へのマクロファージ浸潤からなる慢性炎症の持続はやがてインスリン抵抗性を惹起する。しかしながら、(1)で示したように、AIM^{-/-}マウスでは AIM 依存的な lipolysis が起こらず、肥満した野生型マウスでみられる内臓脂肪へ炎症性マクロファージの浸潤が起こらない。そのため、血清中に含まれる TNF α や IL-6 等の炎症正サイトカイン濃度も低く保たれ、全身の炎症が抑えられていることがわかった。それ故に、野生型肥満マウスにみられるインスリン抵抗性の惹起は AIM^{-/-}マウスでは観察されなかった。

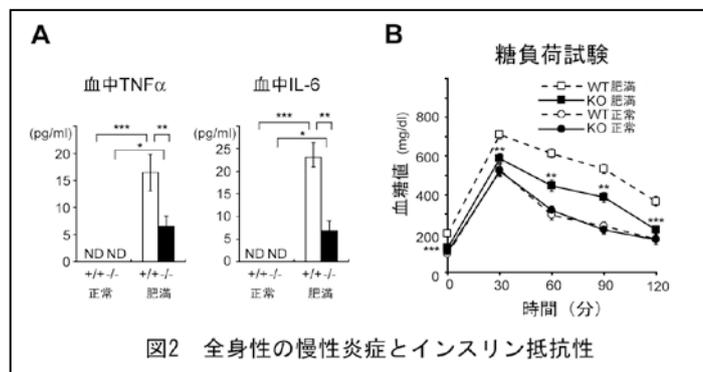


図2 全身性の慢性炎症とインスリン抵抗性

(3) AIM 中和抗体の作製

機能的中和抗体として、抗 AIM モノクローナル抗体の作製を試みた。まず始めに、マウスに rAIM を抗原として免疫しても抗体が得られなかった。次にホストにラットを用いて作製したところ、30 種類の抗 AIM モノクローナル抗体が得られた。これらについて、3T3-L1 脂肪細胞における AIM の lipolysis 機能を阻害するクローンを選定中である。

4. 考察

本研究により、肥満すると脂肪組織において慢性炎症が起こるその根本原因が明らかになった。すなわち、肥満すると AIM の血中濃度が上昇し、脂肪組織に於いて AIM が取り込まれるようになる。すると、AIM の lipolysis 機能によって中性脂肪の分解が起こり、遊離脂肪酸とグリセロールが放出される。遊離脂肪酸は脂肪細胞が発現している TLR を刺激することで、ケモカイン類の発現を促す。これにより、マクロファージが浸潤する。

これは、肥満脂肪組織におけるマクロファージ浸潤には基礎レベルの lipolysis の上に、さらに AIM 依存的な lipolysis による遊離脂肪酸排出が必要であることを示している。すなわち、肥満化しても脂肪組織における AIM 依存的な lipolysis が無ければ、TLR4 を活性化する十分な遊離脂肪酸の放出が起こらず、ケモカイン発現も抑えられ、マクロファージの浸潤が誘起されない。

このように、AIM は肥満状況下でその血中濃度が増加し、脂肪組織に直接作用して AIM 依存的な lipolysis を介して遊離脂肪酸の放出を促し、マクロファージの浸潤を誘導することから、内臓脂肪の慢性炎症、そしてそれに続くインスリン抵抗性惹起の first step となる重要な分子であるといえるだろう。

したがって、AIM の機能を阻害することで、脂肪組織におけるマクロファージ浸潤を抑制し、慢性炎症に至るプロセスそのものを断ち切ることでインスリン抵抗性の惹起、そしてそこから派生する糖尿病を初めとする様々なメタボリックシンドロームを予防・治療することが可能になると考えられる。

最後に、本研究を遂行するに当たり、本助成金を賜りました 公益財団法人アステラス病態代謝研究会に厚く御礼申し上げます。

5. 発表論文

発表論文

Kurokawa J, Nagano H, Ohara O, Kubota N, Kadowaki T, Arai S, Miyazaki T. Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) is required for obesity-associated recruitment of inflammatory macrophages into adipose tissue. Proc Natl Acad Sci U S A 2011; 108: 12072.

参考論文

Kurokawa J, Arai S, Nakashima K, Nagano H, Nishijima A, Miyata K, Ose R, Mori M, Kubota N, Kadowaki T, Oike Y, Koga H, Febbraio M, Iwanaga T, Miyazaki T. Macrophage-derived AIM is endocytosed into adipocytes and decreases lipid droplets via inhibition of fatty acid synthase activity. Cell Metab 2010; 11: 479.