

新規ケモカインによる代謝疾患の病態分子機構解明

金沢大学 脳・肝インターフェースメディシン研究センター
太田 嗣人

1. 目的

肥満を背景とするインスリン抵抗性および代謝疾患に共通する病態である「慢性炎症」の誘導と維持において、マクロファージは重要な役割を果たしている。しかし、炎症反応の遷延化機序とエネルギー代謝の破綻機構を説明する分子基盤の解明は乏しい。本研究では代謝臓器(脂肪組織等)局所における炎症を制御し、インスリン抵抗性の発症に密接に関わる分子としてケモカインとその受容体(ケモカインシステム)に着目する。これまで、肥満脂肪組織へのマクロファージの浸潤にケモカインMCP-1とその受容体CCR2の中心的役割が示唆されている(JCI116:115, 2006)。しかし申請者は、MCP-1-CCR2系とは独立して、肥満マウスの脂肪組織において発現が増加するケモカインシステムとして新たにCCR5系を見出した。

本研究課題では炎症及びインスリン感受性をダイナミックに制御する新たなケモカイン受容体としてCCR5の機能解析を行い、肥満による炎症細胞サブセットの動態制御とインスリン抵抗性の発症における意義を明らかにする。

2. 方法

1) 肥満モデル(高脂肪食摂取C57B1/6Jマウス(DIO)とob/obマウス)の脂肪組織におけるケモカインシステムの発現と局在、2) ケモカイン受容体CCR5欠損マウスの機能解析として、①高脂肪食負荷CCR5欠損マウス(CCR5^{-/-})、②ob/obマウスとの交配によるCCR5欠損ob/obマウス、③CCR5^{-/-}(KO)から採取した骨髄細胞を正常マウス(WT)に移植したキメラマウス(KO-BMT, WT-BMT)の3種類のCCR5^{-/-}マウスの代謝表現型を評価した。さらに、3) 肥満による炎症病態への関与が示唆されるマクロファージサブセット(炎症惹起性M1および炎症抑制性M2)、CD8⁺T細胞やCD4⁺T細胞におけるTreg等の機能的サブセットの動態制御をフローサイトメトリーにより定量的に解析した。

3. 研究成果

1. 肥満の脂肪組織ではCCR5陽性マクロファージの浸潤・集積が増加する

野生型マウス(WT)に比し、DIOマウスの精巣上体脂肪ではマクロファージの浸潤に先行して、15週齢よりCCR2系のみならずCCR5とそのリガンド(MIP-1 α 、MIP-1 β 、RANTES、MCP-2)の遺伝子発現は増加した。ob/obマウスの脂肪組織においてもCCR5系の発現は亢進していた。脂肪組織におけるCCR5とそのリガンドはいずれも間質血管系分画(SVF)に優位に発現し、crown-like structureを構成するF4/80⁺脂肪組織マクロファージ(ATM)に一致してCCR5陽性シグナルを認めた。さらにフローサイトメトリー解析から、DIOマウスの精巣上体脂肪におけるCCR5⁺ATM細胞数は12倍と著明に増加していた。以上より、肥満により脂肪組織ではCCR5⁺ATMの浸潤・集積が

増加することが明らかとなった (Diabetes 61:1680-90, 2012)。

2. CCR5の欠損は高脂肪食負荷による脂肪組織の炎症とインスリン抵抗性を軽減する

高脂肪食を摂取したCCR5^{-/-}マウスは、体重推移と脂肪組織重量、摂食量は対照マウスと同等であったが、耐糖能および血清インスリン値は12週齢以降有意に低下し、肝脂肪蓄積は減少した。CCR5^{-/-}の脂肪組織ではマクロファージの浸潤は減少し、炎症惹起性のM1マクロファージマーカーと炎症性サイトカインの遺伝子発現が低下していた。また、脂肪組織におけるIRS1とAktのリン酸化増加からインスリンシグナルは亢進し、JNK・p38MAPK, NF- κ Bのシグナルの減弱を伴っていた。以上より、CCR5の欠損は高脂肪食によるインスリン抵抗性、耐糖能異常、脂肪肝の発症を抑制すること、その機序として、脂肪組織にけるマクロファージ浸潤の減少と炎症・ストレスシグナルの減弱が密接に関与することが明らかとなった (Diabetes 61:1680-90, 2012)。

3. CCR5による脂肪組織マクロファージ (ATM) の量および極性の変化とインスリン抵抗性へ与えるインパクト

肥満によるマクロファージサブセットの極性がM2からM1へシフトすることが炎症の慢性化とインスリン抵抗性の発症に寄与すること (Nature 447:1116, 2007等)、また肥満病態では、CD8+T細胞や、CD4+T細胞にも従来の Th1/2に加えてTh17、Tregなどの新たな機能的サブセットの炎症病態への関与が注目されている。(Nat Med 15:914, 2009等)。高脂肪食負荷CCR5^{-/-}マウスは対照マウスに比しATMの総数は減少し、中でもM1 ATMが減少していた。一方、M2 ATMは増加し、その結果、脂肪組織のM2/M1比が増加した。CCR5^{-/-}マウスの脂肪組織では、総じて、ATM数の低下のみならずM1から M2優位へとATMの極性の転換を認めていた。CCR5欠損による脂肪組織の炎症とインスリン抵抗性の減弱において、ATMの量の変化のみならずM1からM2へとダイナミックなATMの極性シフトが寄与することが明らかとなった (Diabetes 61:1680-90, 2012)。

4. 骨髄特異的CCR5欠損は脂肪組織の炎症とインスリン抵抗性を改善する

高脂肪食負荷KO-BMTはWT-BMTに比し、耐糖能とインスリン値はKO-BMTにおいて低下した。また、高脂肪食負荷KO-BMTの脂肪組織ではマクロファージの浸潤がWT-BMT と比べ顕著に減少していた。従って、骨髄由来マクロファージにおけるCCR5の欠損は肥満による脂肪組織の炎症とインスリン抵抗性を軽減することが明らかとなった。以上の研究成果 (1-4) は、Diabetes 61:1680-90, 2012(5)に報告し、Review article (1) やCommentary (3) で解説し、複数の国際学会シンポジウムに招待講演として招かれた。

5. CCR5欠損はob/obマウスの脂肪組織の炎症を軽減し糖代謝異常を改善する

1) CCR5^{-/-}マウス (KO) とob/obマウスとの交配によるCCR5欠損ob/obマウスは、ob/obに比し体重および脂肪重量は同等であったが、高血糖と高インスリン血症、脂肪肝の発症に強い抵抗性を示し、脂肪組織ではマクロファージ浸潤の著明な減少、TNF α の発現低下を認めインスリンシグナルは亢進した。ob/obマウスにおける全身CCR5の欠損においても脂肪組織の炎症を軽減し、インスリン抵抗性を改善することを明らかにした (投稿準備中)。

4. 考察

本研究により、肥満の脂肪組織ではMCP-1-CCR2非依存性に CCR5を介したマクロファージの浸潤により炎症が誘導され、全身のインスリン抵抗性が惹起されることが示された。これまでに、神経変性疾患やガン、動脈硬化症等に共通する病態である慢性炎症にケモカインが重要な役割を果たすことが知られている。MCP-1-CCR2に代表されるケモカインシステムは、脂肪細胞とマクロファージの相互作用による組織・臓器レベルの炎症のみならず、脂肪組織とそれ以外の臓器とのクロストークによる個体の炎症と全身のインスリン抵抗性の発症に深く関与している可能性がある。今回、申請者はCCR2と同じCCケモカインの受容体であるCCR5は脂肪組織のマクロファージに強く発現し、実際に肥満により脂肪組織へCCR5+マクロファージが浸潤・蓄積することを見出した。さらに複数の遺伝子改変モデルによる検討により、CCR5欠損により肥満による炎症誘導とインスリン抵抗性が減弱し、糖脂質代謝異常が改善することから、肥満によるインスリン抵抗性の形成におけるCCR5の重要性を明らかにした。

しかし、肥満によるケモカインの発現機構や、ケモカインによるM2マクロファージやT細胞等の炎症細胞サブセットの動態制御、また、50に上るケモカインの代謝疾患の病態形成における役割分担の解明など明らかにされるべき問題は数多く残っている。今後、ケモカインシステムに着目した肥満による炎症と代謝疾患の新たな制御機構を解明し、炎症制御を介した生活習慣病治療薬としての臨床応用を見据えた基礎研究をさらに推進して行きたい。

5. 発表論文

1. Ota T: Chemokine systems link obesity to insulin resistance. *Diabetes Metab J* 37:165-172, 2013
2. Kimura K, Nakamura Y, Inaba Y, Matsumoto M, Kido Y, Asahara S, Matsuda T, Watanabe H, Maeda A, Inagaki F, Mukai C, Takeda K, Akira S, Ota T, Nakabayashi H, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H: Histidine augments the suppression of hepatic glucose production by central insulin action. *Diabetes* 62:2266-77, 2013
3. Ota T: CCR5: a novel player in the adipose tissue inflammation and insulin resistance? *Adipocyte* 2:99-103, 2013
4. Otoda T, Takamura T, Misu H, Ota T, Murata S, Hayashi H, Takayama H, Kikuchi A, Kanamori T, Shima RK, Lan F, Takashi Takeda T, Kurita S, Ishikura T, Kita Y, Iwayama K, Kato K, Uno M, Takeshita Y, Yamamoto M, Tokuyama K, Iseki S, Tanaka K, Kaneko S: Proteasome dysfunction mediates obesity-induced endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. *Diabetes* 62:811-24, 2013
5. Kitade H, Sawamoto K, Nagashimada M, Inoue H, Yamamoto Y, Sai Y, Takamura T, Yamamoto H, Miyamoto K, Ginsberg HN, Mukaida N, Kaneko S, Ota T*: CCR5 plays a critical role in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating both macrophage recruitment and M1/M2 status. *Diabetes* 61:1680-90, 2012 *Corresponding author