

論文内容要旨

The role of CCL19-CCR7 pathway on the development of high-fat-induced obesity and insulin resistance

(CCL19-CCR7 経路が肥満およびインスリン抵抗性に及ぼす影響に関する検討)

主指導教員 柴 秀樹 教授

(統合健康科学部門 歯髓生物学)

副指導教員 香西 克之 教授

(統合健康科学部門 小児歯科学)

副指導教員 杉田 誠 教授

(基礎生命科学部門 口腔生理学)

佐野 朋美

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

論文内容要旨

論文題目

The role of CCL19-CCR7 pathway on the development of high-fat-induced obesity and insulin resistance

(CCL19-CCR7 経路が肥満およびインスリン抵抗性に及ぼす影響に関する検討)

学位申請者 佐野 朋美

【背景】

厚生労働省から発表されている「2010年国民健康・栄養調査結果の概要」によると、日本人の糖尿病や高血圧症、脂質異常症などの生活習慣病をもつ人の割合は男女ともに増加の一途をたどっている。生活習慣病は、複数の遺伝素因と環境要因が重なり合って発症するが、最終的に心筋梗塞や脳梗塞に至るのは、インスリンの標的細胞における作用が不十分な状態、すなわちインスリン抵抗性が根本的な原因であるとされている。また、肥満者や糖尿病患者は歯周病に罹患しやすく、肥満や糖尿病による歯周病の重症化がさらなるインスリン抵抗性惹起要因となることが判明している。肥満者の脂肪組織においてはマクロファージが浸潤し、脂肪細胞との相互作用で炎症が惹起され、インスリン抵抗性が亢進する。しかしながら、脂肪組織浸潤マクロファージの表現系については不明な点が多く、歯周炎症で活性化され浸潤する単球系細胞についても表現系は不明である。そこで、肥満脂肪組織を想定した脂肪細胞とマクロファージの共培養系を用いて脂肪組織の慢性炎症およびインスリン抵抗性の惹起に関与する遺伝子群の網羅的解析を行い、発現変動のみられた遺伝子に着目し *in vitro*、*in vivo* において肥満およびインスリン抵抗性の発症への影響について検討を行った。

【材料および方法】

マウス前駆脂肪細胞株 3T3-L1 とマウスマクロファージ由来細胞株 RAW264.7 を用い、3T3-L1 の単独培養、両細胞の共培養、および両細胞に *E.coli*.LPS (1ng/ml) 刺激を加えた共培養を行い、4、8、12、24 時間後の脂肪細胞の mRNA を回収した。リアルタイム PCR 法にて脂肪細胞における CXCL1、CXCL5、CXCL9、CXCL10、CCL2、CCL5、CCL7、CCL11、CCL19、CCL22 の発現量を単独培養、共培養 LPS (-)、共培養 LPS (+) について比較した。

高脂肪食誘導性肥満マウスと ob/ob マウスへの尾静脈からの LPS を注入し、血中 CCL19/MIP-3 β 濃度を ELISA 法にて測定した。また、その受容体である CCR7 に着目し、CCR7 経路が肥満およびインスリン抵抗性発症に及ぼす影響について、通常食あるいは高脂肪食負荷野生型マウスおよび CCR7 欠損マウスを用い、耐糖能やマウスの表現系を比較した。用いたマウスは 7~9 週齢のオスで、食餌負荷開始 12 週後にインスリン負荷試験、14 週後にグルコース負荷試験、16 週後に解剖を行ない、以下の項目について検討を行った。

1. 肝臓・脂肪組織の組織像 (HE 染色)
2. 肝臓・脂肪組織における遺伝子発現量 (リアルタイム PCR 法)
3. 血清生化学マーカー (ELISA 法)

【結果および考察】

LPS 刺激下で RAW264.7 マウスマクロファージと共培養した 3T3-L1 マウス脂肪細胞において、CC Chemokine Ligand 19 (CCL19: MIP-3 β) 遺伝子発現の著明な増大が認められた。

また、尾静脈から LPS を注入した肥満マウスでは LPS 注入 1 日後の血中 CCL19 濃度の増加がみられた。この現象は、高脂肪食負荷により肥満を惹起したマウスと ob/ob マウスのいずれにおいても確認された。すなわち、成熟脂肪組織が CCL19 の主な産生源と考えられた。

通常食あるいは高脂肪食負荷野生型マウスおよび CCR7 欠損マウスを用いた検討では、野生型マウスに比べ CCR7 欠損マウスでは、高脂肪食負荷による体重および内臓脂肪量増加の抑制が認められた。また、インスリン負荷試験において高脂肪食負荷によるインスリン感受性低下の改善が認められた。

さらに、CCR7 欠損マウスでは高脂肪食誘導性の肝臓への脂肪蓄積が著明に抑制されていることが明らかとなった。また、野生型マウスに比べ CCR7 欠損マウスでは、肝臓および脂肪組織における炎症性サイトカイン遺伝子発現の抑制が確認され、エネルギー代謝関連因子の血中濃度上昇も抑制された。

以上、成熟脂肪組織が CCL19 の主な産生源であること、また CCL19-CCR7 経路を遮断したマウスで高脂肪食負荷による肥満およびインスリン抵抗性の発症が抑制されたことから、CCL19-CCR7 経路が肥満およびインスリン抵抗性の発症に関与することが示唆された。

CCL19 は活性化樹状細胞を誘引する。近年では、マクロファージに加え樹状細胞が脂肪組織の炎症に関与している可能性が示唆されている。本研究では、CCL19 およびその受容体 CCR7 が高脂肪食誘導性肥満やインスリン抵抗性の発症に関与することが示唆されたことから、さらに詳細な機序の解明により、新たな治療標的の構築につなげることが可能であると考えられる。