

トピックス

# 肥満の脂肪組織における脂肪細胞とマクロファージのパラクリン調節系

## — 共培養系を用いた検討 —

菅波 孝祥\*, 亀井 康富\*, 小川 佳宏\*

\*東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野

### はじめに

肥満, 特に内臓脂肪型肥満を中心に, 糖代謝異常, 脂質代謝異常, 高血圧などのリスクが集積するメタボリックシンドロームの基盤病態として, 全身の軽度の炎症反応が指摘されている<sup>1)</sup>.

実際, 肥満の脂肪組織では, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) や interleukin-6 (IL-6) に代表される炎症性アディポサイトカインの産生が亢進し, アディポネクチンのような抗炎症性アディポサイトカインの産生は減少することが知られており, これが肥満やメタ

ボリックシンドロームに合併する炎症性変化に関連するとされている<sup>2)</sup>. 肥満は体脂肪が過剰に蓄積した状態と定義され, 細胞レベルでは成熟脂肪細胞の肥大化(サイズの増大)と脂肪細胞数の増加により決定されるが, 脂肪組織には成熟脂肪細胞のみならず, 前駆脂肪細胞, 血管構成細胞, マクロファージなどの非成熟脂肪細胞分画(stromal-vascular fraction: SVF)が含まれており, 肥満や痩せにより脂肪組織を構成する細胞成分が大きく変化する. 最近では, 肥満の脂肪組織にはマクロファージの浸潤が増加することが報告され

ており<sup>2,3)</sup>, 脂肪組織における炎症性変化を増大し, これによりアディポサイトカイン産生調節の破綻につながる可能性がある. 本稿では, 共培養系を用いた脂肪細胞とマクロファージの相互作用に関する筆者らの知見を報告する.

### 脂肪細胞とマクロファージの共培養系

脂肪組織に浸潤するマクロファージの機能的意義を明らかにするために, 筆者らは最近, 脂肪細胞とマクロファージの共培養系を独自に確立した<sup>4)</sup>. 3T3-L1脂肪細胞とRAW264マクロファージが相互に接触する共培養(接触法)を施行し, 同数の脂肪細胞とマクロファージを別々に培養したものを対照群とした(図1). 対照群と比較して24時間の共培養群では, TNF  $\alpha$ , IL-6, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)等の炎症性サイトカインやケモカインの遺伝子発現と培養上清中の分泌蛋白量は著しく増加するのに対して, 抗炎症性サイトカインであるアディポネクチンは有意に抑制された. 以

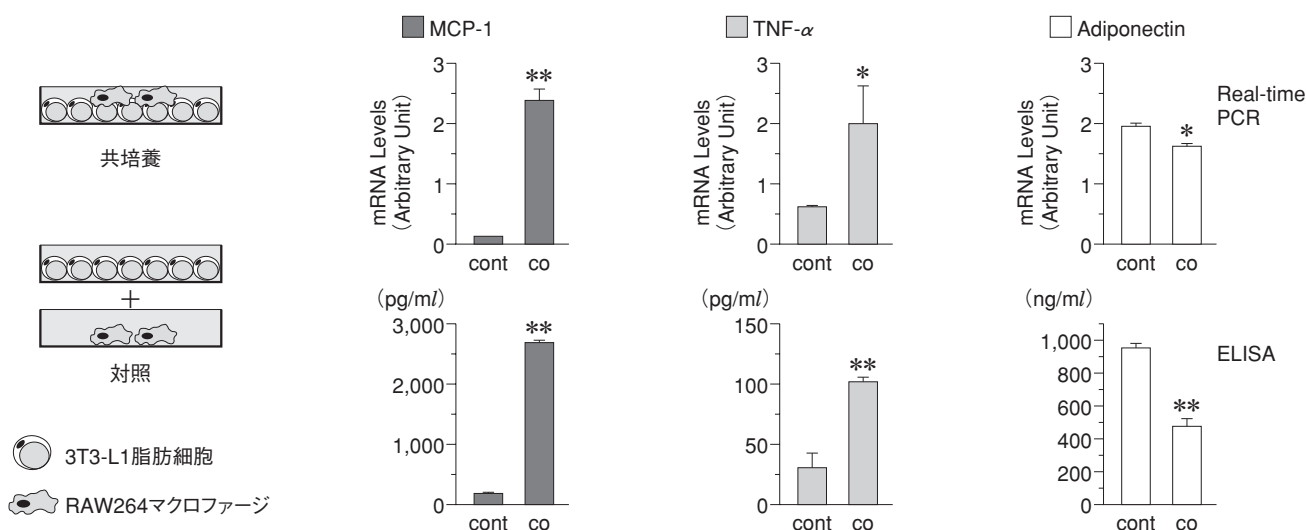


図1 接触法による共培養

脂肪細胞とマクロファージの共培養(接触法)により, ケモカイン(MCP-1)や炎症性サイトカイン(TNF  $\alpha$ )の産生が著明に増加し, 抗炎症性サイトカイン(アディポネクチン)の産生が減少した. cont; 対照, co; 共培養, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

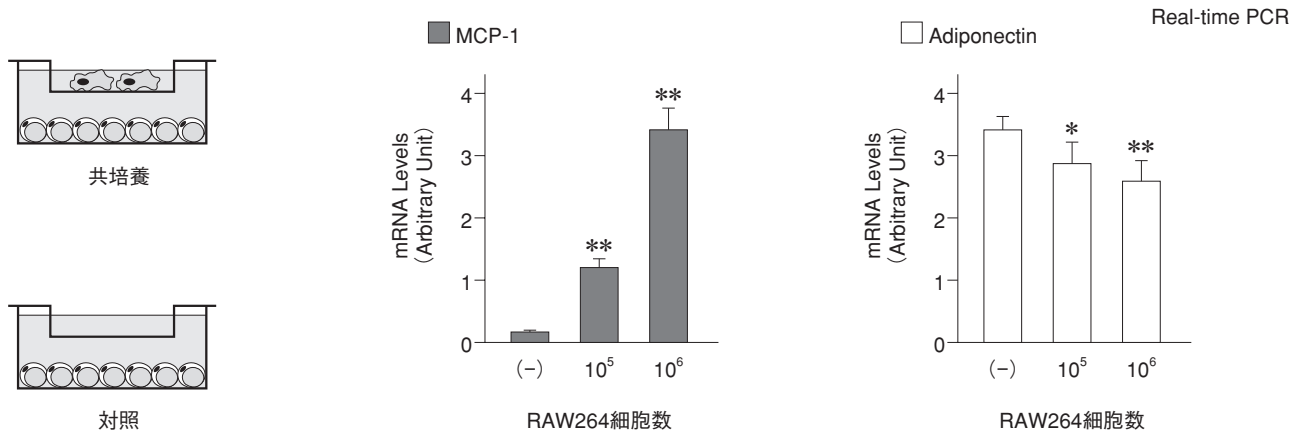


図2 非接触法による共培養

脂肪細胞とマクロファージが互いに接触しない共培養(非接触法)にて、脂肪細胞の炎症性変化が惹起された。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

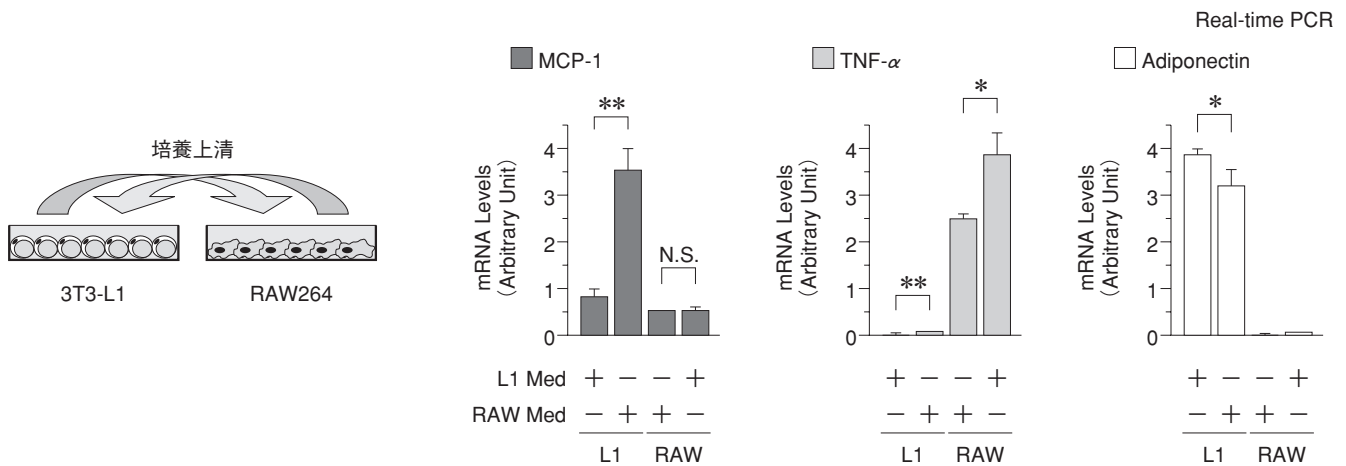


図3 脂肪細胞とマクロファージの培養上清が炎症性変化に及ぼす影響

脂肪細胞およびマクロファージの培養上清は、それぞれマクロファージと脂肪細胞の炎症性変化を惹起した。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

上のように、脂肪細胞とマクロファージの共培養により炎症性変化が誘導されることが示唆された。

トランスウェル法により脂肪細胞とマクロファージが接触しない状態で共培養(非接触法)を施行したところ、マクロファージの数に比例して脂肪細胞におけるMCP-1の産生は増加し、アディポネクチンは減少した(図2)。また、マクロファージの培養上清を脂肪細胞に添加したところ、脂肪細胞におけるMCP-1遺伝子発現が著しく増加し、アディポネクチンの産生は有意に抑制された(図3)。逆に、脂肪細胞の培養上清をマクロファージに添加した場合に

は、マクロファージにおけるTNF $\alpha$ 遺伝子発現が有意に増加した(図3)。同時に検討したMCP-1の産生には明らかな変化は認められなかった。

以上より、共培養系では、脂肪細胞とマクロファージが産生する液性因子により互いに活性化されて炎症性変化が誘導されること、MCP-1とアディポネクチンは主に脂肪細胞において産生されるのに対してTNF $\alpha$ は主にマクロファージに由来することが明らかになった。このように、本共培養系は脂肪細胞とマクロファージの相互作用を検討する上で優れたモデルであることが示唆された。

### 脂肪細胞とマクロファージのパラクリン調節

次に、この液性因子の同定を試みた。上記の検討により、共培養系においてTNF $\alpha$ は主にマクロファージに由来することが明らかになったので、マクロファージに由来し、脂肪細胞に炎症性変化を誘導する液性因子として、TNF $\alpha$ に着目した。共培養系にTNF $\alpha$ の中和抗体を添加すると、接触法においても非接触法においてもMCP-1遺伝子発現は著しく抑制されたため、マクロファージにおいて産生されるTNF $\alpha$ が共培養系における炎症性変

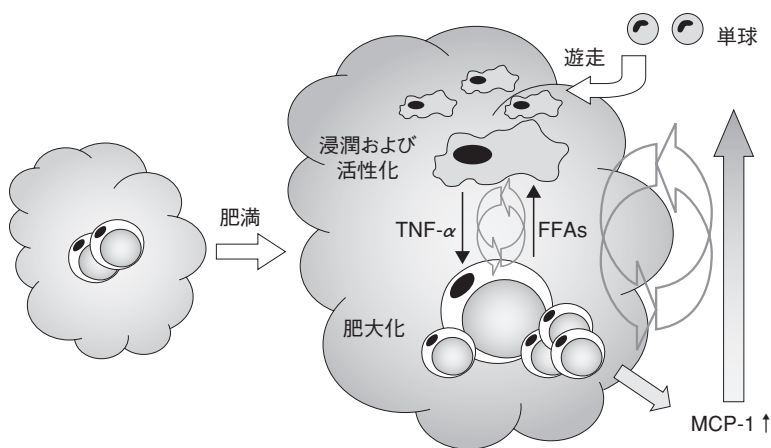


図4 脂肪細胞とマクロファージのパラクリン調節系

化の誘導に関与すると考えられた。

TNF $\alpha$ は脂肪細胞における脂肪分解を亢進することが知られている。マクロファージとの共培養により脂肪細胞における脂肪酸分解は著しく亢進すること、TNF $\alpha$ 中和抗体の添加により共培養による脂肪分解は有意に抑制されることが確認され、共培養により誘導される脂肪分解の少なくとも一部にはマクロファージに由来するTNF $\alpha$ が関与すると考えられる。以上の知見を踏まえて、筆者らは脂肪細胞に由来し、マクロファージに炎症性変化を誘導する液性因子として遊離脂肪酸(FFA)に注目した。実際に、パルミチン酸やラウリル酸などの飽和脂肪酸は、マクロファージにおけるTNF $\alpha$ 遺伝子発現と培養上清中の分泌量を有意に増加した。興味深いことに、EPAやリノレン酸などの多価不飽和脂肪酸では全く反応が認められなかった。

以上より、マクロファージから産生されるTNF $\alpha$ が脂肪細胞の炎症性変化を促進するとともに脂肪酸の遊離を促進し、FFAがマクロファージにおける炎症性変化を促進することにより、炎症性変化を促進すると考えられた。

### 肥満の脂肪組織における脂肪細胞とマクロファージの相互作用

肥満の脂肪組織では、脂肪細胞の肥大化とマクロファージの浸潤が認められるため、これらが脂肪組織の炎症性変化にどのような影響を及ぼすかに関して共培養系を用いて検討した。野生型マウスとob/obマウスの脂肪組織からSVFを調整して共培養を施行したところ、ob/obマウスのSVFでは、マクロファージマーカーであるF4/80やTNF $\alpha$ の遺伝子発現が著しく増加しており、3T3-L1脂肪細胞と共培養を施行したところ、野生型マウスと比較してMCP-1遺伝子発現が著しく増加した。一方、長期間培養して肥大化した3T3-L1脂肪細胞とマクロファージの共培養では、通常サイズの脂肪細胞と比較して、MCP-1遺伝子発現がさらに亢進し、TNF $\alpha$ やアディポネクチンの産生も増大した。以上のように、肥満の脂肪組織で認められる脂肪細胞の肥大化とマクロファージの浸潤はいずれも共培養系における炎症性変化を増強することが明らかになった。

### まとめ

以上のように、肥満の脂肪組織では

脂肪細胞に由来する遊離脂肪酸とマクロファージに由来するTNF $\alpha$ が脂肪細胞とマクロファージの炎症性変化を増悪するというパラクリン調節系が想定される(図4)。即ち、肥満の進展に従って肥大化した脂肪細胞に軽度の炎症性変化が誘導され、多くの炎症性サイトカインやケモカインの産生が増加し、主に骨髄に由来する単球を脂肪組織にリクルートする。脂肪組織において、浸潤したマクロファージと肥大化脂肪細胞は、TNF $\alpha$ とFFAに代表される液性因子を介して相互作用し、「Vicious Cycle(悪循環)」を形成して、アディポサイトカイン産生調節の破綻が招来されると考えられる。さらに、脂肪組織において過剰に産生されるMCP-1は脂肪組織へのマクロファージ浸潤を増強する可能性がある。このような脂肪組織におけるパラクリン調節系の分子機構の解明により、脂肪組織の炎症性変化に焦点を当てた新しいメタボリックシンドローム治療薬の開発につながる可能性が期待される。

### 文献

- 1) Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A : Inflammation : the link between insulin resistance, obesity and diabetes. Trends Immunol 2004, **25** : 4-7.
- 2) Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al : Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. J Clin Invest 2003, **112** : 1821-1830.
- 3) Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al : Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest 2003, **112** : 1796-1808.
- 4) Suganami T, Nishida J, Ogawa Y : A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes : role of free fatty acids and tumor necrosis factor  $\alpha$ . Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005, **25** : 2062-2068.