

トピックス

脂肪組織由来のMCP-1とメタボリックシンドローム

神田 一

Yale University School of Medicine

はじめに

肥満に伴うメタボリックシンドロームの病態形成には、脂肪由来の分泌因子(Adipokine)が重要な役割をはたしていることが知られている。2000年 Abel ED¹⁾らは脂肪組織特異的GLUT4欠損マウスを作成、解析することで、変異モデルマウスでは骨格筋、肝臓におけるインスリン抵抗性をきたすことを明らかにした。このことは、脂肪組織由来の分泌因子が個体の代謝調節に重要であることを示すものである。また、メタボリックシンドロームの病態形成に脂肪組織でのマクロファージの働きが重要であることが知られている²⁾。

神戸大学大学院医学系研究科春日雅人教授、田守義和先生、小谷光先生、楯谷三四郎先生および筆者らはこの報告を契機として、グルコース除去による3T3L1脂肪細胞の遺伝子発現変化をマイクロアレイにて比較をし、新規Adipokineの同定を試みた。この結果、ケモカインの一種であるMCP-1の遺伝子発現が顕著に増加していることが明らかになった³⁾。これらのことから、MCP-1の働きを*in vivo*トランスフェクション法を用いてMCP-1拮抗ペプチドを発現させる実験を行ったところ、肥満糖尿病モデルマウスにおいて、耐糖能異常、脂肪肝の顕著な改善を得る

ことができた。このことは、抗MCP-1療法がメタボリックシンドロームの治療に応用ができる可能性を示唆するものであると考える。本稿では、MCP-1拮抗ペプチドの肥満モデルマウスに対する効果について述べることで、MCP-1のメタボリックシンドロームに対する新規治療ターゲットとし

ての側面を解説したい。

1. 肥満モデルマウスにおける、脂肪組織でのMCP-1発現の増加と脂肪組織中のマクロファージの増加

図1は12週間高脂肪食を与えることで肥満させたマウスの脂肪組織での、MCP-1遺伝子発現をノザンブロットで示したものである。白色、褐色脂肪組織に特異的にMCP-1遺伝子発現が増強していることがわかる。このときの、白色脂肪組織に対し、マクロファージ特異的抗原であるMAC3抗体で組織免疫染色を行うと、高脂肪食負荷による肥満マウスでは、非肥満マウスに比べて有意にMAC3増加が見られた。また、白色脂肪組織をコラゲナーゼ1で溶解した後、stromal-vascular

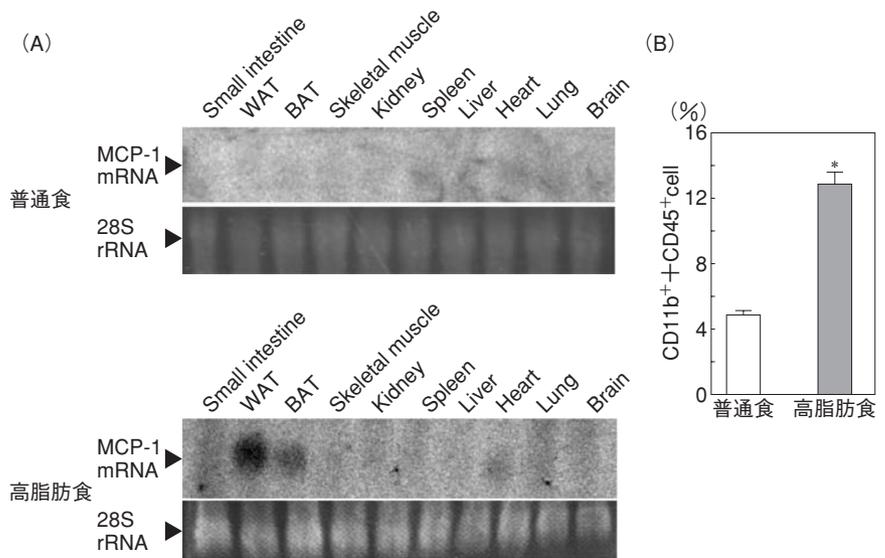


図1 高脂肪食肥満マウスと通常食マウスでの臓器別遺伝子発現の比較(A)と脂肪組織中マクロファージの同定(B)と定量(C)

(A)高脂肪食および通常食を12週与えたC57B6/Jマウスの臓器(小腸、白色脂肪、褐色脂肪、骨格筋、腎臓、脾臓、肝臓、心臓、肺、脳)を採取し、マウスMCP-1に対するプローブを用いたノザンブロットの結果を示す。(B)各々のマウスの精巣周囲脂肪組織より得たストローマバスキュラー分画をCD45-FITCおよびCD11b-PE抗体を用いてフローサイトメトリー解析を行った結果を示す。*通常食飼育群に対し、student's t検定にてP<0.05

Kanda H et al. : J Clin Invest 2006, 116:1494-1505より改変引用

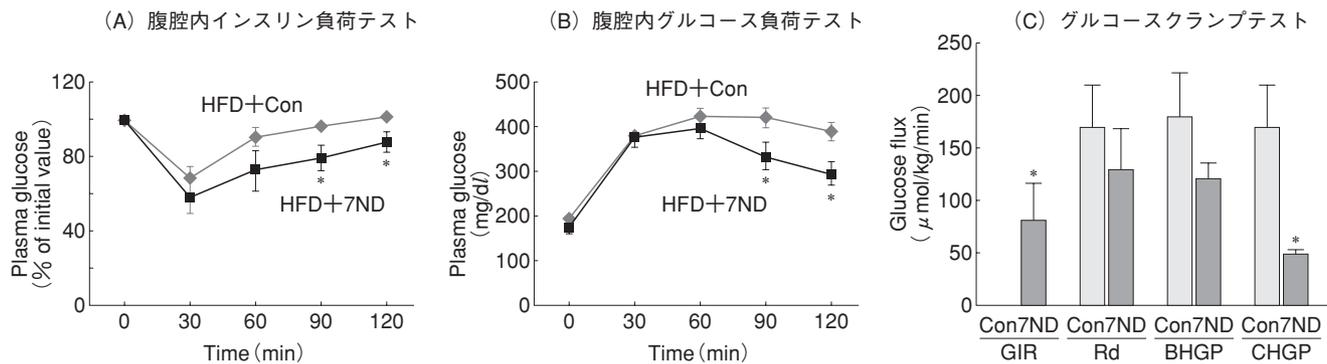


図2 高脂肪食肥満マウスに対するhMCP1-7NDの効果

高脂肪食負荷を24週間行ったマウスに対し、hMCP1-7ND (HFD+7ND) およびpcDNA3 (HFD+Con) を *in vivo* トランスフェクションを行い3週目に、(A) 腹腔内インスリン負荷試験(0.75U/kg)、(B) 腹腔内グルコース負荷試験(2g/kg)、(C) 高インスリングルコースクランプ試験を行った。GIR : グルコース注入速度、Rd : グルコース消失速度、BHGP : 肝糖新生(基礎)、CHGP : 肝糖新生(クランプ)

*empty vectorを用いたcontrol群に対し、student's t 検定にて $P < 0.05$

Kanda H et al. : J Clin Invest 2006, 116:1494-1505より改変引用

fraction分画(SVF)を遠心法にて採取した。このSVFに対してCD45⁺CD11b⁺である細胞集団をマクロファージと考え、フローサイトメトリーにて定量化した。肥満マウスでは対象に比べ有意なマクロファージの増加が見られた。

2. MCP-1拮抗ペプチドhMCP-1-7NDの*in vivo*トランスフェクションによる発現

ヒトMCP-1のN末側7アミノ酸の欠損変異体(hMCP-1-7ND)のシェーマを示す。MCP-1などのケモカインはN末側の欠損変異体は容易にMCP-1とヘテロダイマーを形成することから優位抑制型変異体として働くことが知られている⁴⁾。アミノ酸のコーディングリージョンをpcDNA3にサブクローニングし、高脂肪食負荷24週を行ったC57BL6/Jマウスおよび、*db/db*マウスの大腿四頭筋に*in vivo*トランスフェクションをエレクトロポレーション法にて行った。トランスフェクション後の、hMCP-1-7NDの発現は末梢血中のペプチド濃度をhMCP-1ELISAにて測定した。末梢ペプチド濃度はエレクトロ

ポレーション後翌日より高い値を示し、21日目まで内因性のMCP-1濃度を上回る値を示した。

3. 高脂肪食肥満モデルマウスに対するMCP-1拮抗ペプチドの影響

上述の、手法にてhMCP-1-7NDを高脂肪食肥満モデルマウスに*in vivo*トランスフェクションを行って3週目でのデータを示す。これらのマウスでは、体重、摂食量には変化がなかったが、糖負荷試験にて耐糖能異常の軽減、インスリン負荷試験にてインスリン感受性の亢進が認められた。また、高インスリングルコースクランプ法ではCHGPの有意な減少を認め、インスリン感受性の亢進は主に肝臓での効果であることが推測できた(図2)。同様の結果は、*db/db*マウスにおいても確認され、特に*db/db*マウスの肝組織中の中性脂肪含有量をメタノールクロロホルム法⁵⁾で抽出し測定すると、7ND発現群では有意な中性脂肪含有量の低下が認められた。hMCP-1-7NDペプチドは、ApoE欠損マウスの動脈硬化領域を退縮させる効果が報告されている⁶⁾。

これらの事実は、肥満モデルマウスにおいて、脂肪組織中のMCP-1発現およびマクロファージの増加が見られることを示すと同時に、増加したMCP-1を拮抗阻害することでメタボリックシンドロームの症状を軽快する可能性を示している。MCP-1に対する拮抗阻害薬は今後従来のメカニズムとはまったく異なった作用機序で働く治療薬となりうる可能性があるといえる。

おわりに

MCP-1の拮抗作用によるメタボリックシンドロームに対する効果はどのようなメカニズムによるものなのだろうか。MCP-1の主要な受容体であるCCR2はマクロファージのみならず、肝臓、骨格筋、中枢などに広く分布することが知られている⁵⁾。我々は、未発表ながら、hMCP-1-7NDにて代謝改善効果が現れる3週間目の脂肪組織でのマクロファージ存在量に変化がないことを観察している。このことは、単純にMCP-1が脂肪組織へのマクロファージの総量を調節しているのではなく、脂肪組織中のマクロファージの

質的な変化を生じさせている可能性を示唆するものである。また一方では、前述のようにCCR2受容体は広くさまざまな臓器に分布する。このことより、MCP-1の各臓器への直接的な効果は否定できない。これらのことについて、今後更に詳細な検討が必要であると考えている。

最後に、本稿で述べた実験成績は筆者が神戸大学大学院医学系研究科、春日研究室に在籍中に春日雅人教授の指導のもと、田守義和先生、小谷光先生、楯谷三四郎先生との共同研究の結果によるものである。また、MCP-1拮抗ペプチド(hMCP-1-7ND)の*in vivo*トランスフェクションに関する技術的指導については九州大学医学部循環器内科

江頭健輔先生、日浅謙一先生の協力によるものであり、諸先生方に感謝の意を表したい。

文 献

- 1) Abel ED, Peroni O, Kim JK, et al. : Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature* 2001, **409** : 729-733.
- 2) Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. : Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003, **112** : 1796-1808
- 3) Kanda H, Tateya S, Tamori Y, et al. : MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* 2006, **116** : 1494-1505
- 4) Kitamoto S, Egashira K. : Gene therapy targeting monocyte chemoattractant protein-1 for vascular disease. *J Atheroscler Thromb* 2002, **9** : 261-265. Review.
- 5) Matsumoto M, Ogawa W, Akimoto K, et al. : PKC λ in liver mediates insulin-induced SREBP-1c expression and determines both hepatic lipid content and overall insulin sensitivity. *J Clin Invest* 2003, **112** : 935-944.
- 6) Inoue S, Egashira K, Ni W, et al. : Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* 2002, **106** : 2700-2706.