

トピックス

脂肪細胞肥大化におけるMCP-1発現誘導とMKP-1の役割

伊藤 綾香^{*1}, 菅波 孝祥^{*1}, 亀井 康富^{*1}, 小川 佳宏^{*1,2}

^{*1} 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野

^{*2} 東京医科歯科大学グローバルCOE

はじめに

肥満はメタボリックシンドロームの基盤病態であり、心血管疾患の前駆段階であることから、肥満の分子機構の解明とそれに立脚した根本的な予防法や治療法の確立は極めて重要である。肥満の脂肪組織では、アディポサイトカインの産生破綻、すなわち炎症性アディポサイトカインの産生亢進と抗炎症性アディポサイトカインの産生低下が生じることが知られている。実際、肥満の脂肪組織では、主要なケモカインである単球走化性因子monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)の産生が増加することが報告されており¹⁾、増加したMCP-1はその受容体であるC-C chemokine receptor-2 (CCR2)を介して脂肪組織におけるマクロファージ浸潤を誘導し、アディポサイトカインの産生調節の破綻などの炎症性変化、ひいては全身の糖代謝に関与すると考えられている²⁻⁴⁾。しかしながら、肥大化脂肪細胞は取り扱いが困難であること、あるいは適切な肥大化培養脂肪細胞モデルがないことから、脂肪細胞の肥大化におけるMCP-1の産生誘導の分子機構には不明な点が多い。

MAPKファミリーは細胞増殖、分化、細胞死、形態形成などの生命現象において重要な役割を果たしていることが知られている。これまでに、肥満の脂肪組織ではMAPKファミリー分子であるERK (extracellular signal-regulated kinase) やJNK (c-Jun NH₂-terminal kinase) が活性化されることが報告されており、ERKあるいはJNKを欠損するマウスでは肥満が抑制されるという^{5,6)}。一方、MAPKの活性はリン酸化状態によって制御されており、脱リン酸化により不活性化する。MAPK脱リン酸化酵素の一つであるMKP-1はERKの活性を制御することにより脂肪細胞分化に関与することが報告されている⁷⁾。本研究では、脂肪細胞肥大化に伴うMCP-1発現誘導においてMAPK経路が重要な役割を果たすという仮説を検証した。

1. 脂肪細胞の肥大化に伴いMCP-1発現が増加する

C57BL/6Jマウスに高脂肪食を負荷して経時的に観察したところ、負荷開始2週目より脂肪細胞の肥大化が認められ、4週目よりMCP-1発現が有意に増加した。一方、この時マクロファージ浸潤の増加は認められず、15週目に

においてマクロファージ浸潤の著しい増加が認められた。以上より、肥満に伴う脂肪組織のMCP-1発現はマクロファージ浸潤が認められる前段階の脂肪細胞の肥大化過程で増加すると考えられた。肥大化脂肪細胞におけるMCP-1発現誘導の分子機構を明らかにするために、3T3-L1脂肪細胞の長期間培養による培養脂肪細胞の肥大化モデルを構築した。すなわち、分化誘導後21日間培養することにより得られた肥大化脂肪細胞では、分化後8日目の非肥大化脂肪細胞と比較して、中性脂肪蓄積の増加が認められた。この時、MCP-1発現は著しく亢進し、肥満の脂肪組織と同様に炎症性サイトカインであるIL-6発現増加や抗炎症性サイトカインであるアディポネクチン発現低下に特徴付けられるアディポサイトカイン産生破綻が認められた。

2. 脂肪細胞の肥大化過程ではERKの持続的な活性化とMKP-1の発現低下を認める

3T3-L1脂肪細胞株の肥大化過程におけるMAPKのリン酸化を検討したところ、肥大化に伴い、ERK、及びp38MAPKのリン酸化亢進が認められたがJNKのリン酸化には変化がなかった。肥大化脂肪細胞におけるMCP-1の発現増加はERKの上流のキナーゼであるMEKの阻害剤 (PD98059, U0126)により有意に抑制されたが、p38MAPKの阻害剤 (SB203580)では抑制されなかった。また、脂肪細胞肥大化の過程では、MEKのリン酸化亢進が認められ、ERKのリン酸化は主に核内において亢進していた。さらに、脂肪細胞の肥大化の過程において、ERKの負の制

Role of MAPK phosphatase-1 (MKP-1) in the induction of MCP-1 during the course of adipocyte hypertrophy

Ayaka Ito^{*1}, Takayoshi Suganami^{*1}, Yasutomi Kamei^{*1}, Yoshihiro Ogawa^{*1,2}

^{*1} Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University

^{*2} Global COE Program, Tokyo Medical and Dental University

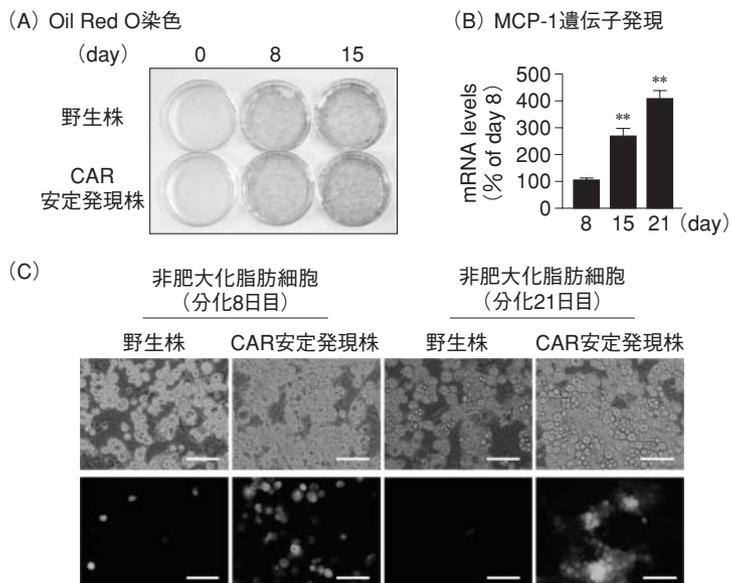


図1 CAR安定発現3T3-L1脂肪細胞株の作製

レトロウイルスベクターを用いてアデノウイルス受容体CAR (coxsackie-adenovirus receptor) を安定発現するCAR-3T3-L1脂肪細胞株を作製した。この細胞を分化誘導すると、野生型と同様に中性脂肪蓄積が認められ(A)、脂肪細胞肥大に伴いMCP-1の発現が増加した(B)。CAR安定発現株にGFPアデノウイルスを感染させたところ、野生型と比較して発現効率の著しい改善が認められた(C)。

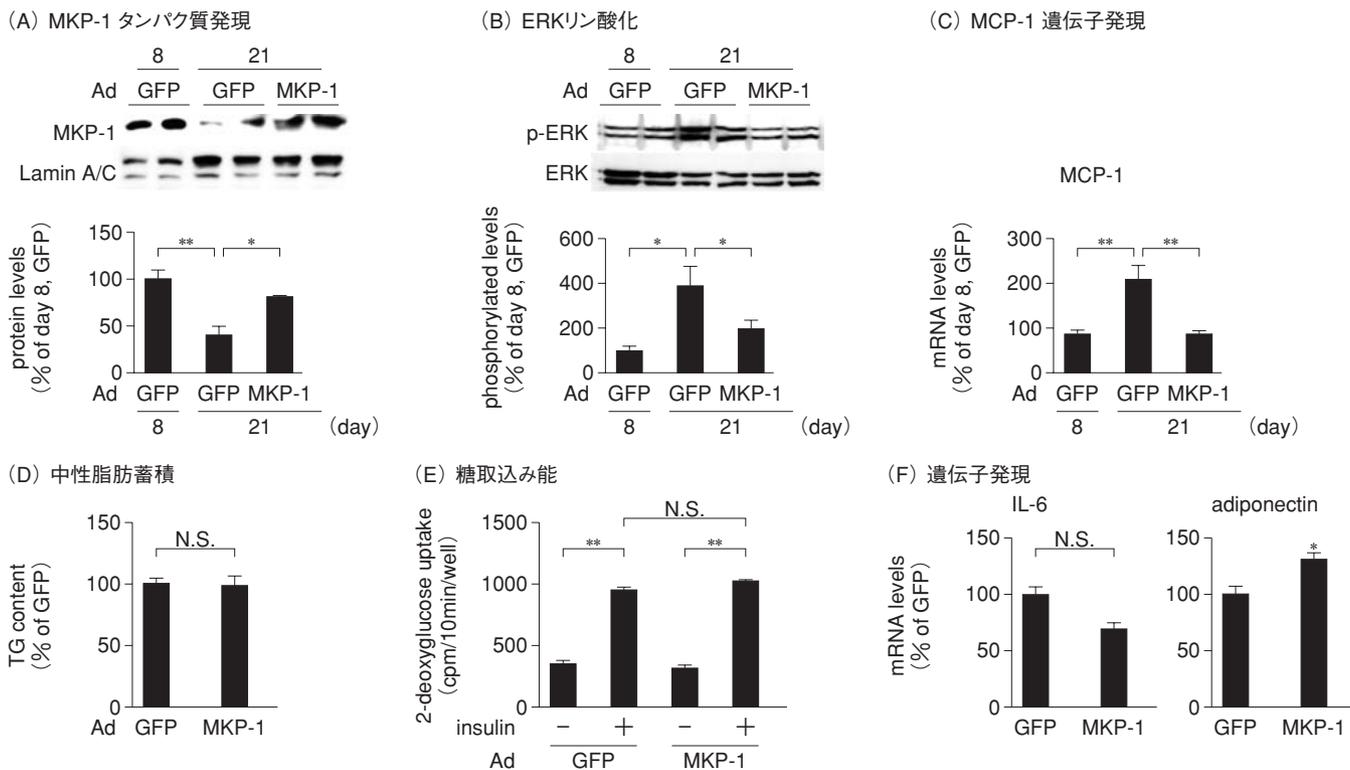


図2 肥大化CAR安定発現3T3-L1におけるMKP-1補充の影響

肥大化したCAR安定発現3T3-L1においてMKP-1アデノウイルスを感染させたところ、MKP-1のタンパク質量を非肥大化脂肪細胞の約80%まで回復させることに成功した(A)。このとき、脂肪細胞肥大に伴って増加したERKのリン酸化が抑制され(B)、MCP-1の遺伝子発現は非肥大化脂肪細胞と同程度まで低下した(C)。興味深いことに、中性脂肪蓄積量(D)や糖取込み能(D)には変化がなかったが、IL-6の発現増加やアディポネクチンの発現低下のような脂肪細胞の炎症性変化は改善されていた(F)。

御因子であるMKP-1(MAPK脱リン酸化酵素)は遺伝子発現, タンパク質発現共に著しく低下した。

高脂肪食を負荷したマウスの脂肪組織においては, マクロファージ浸潤の増加が観察される前の負荷4週目以降においてERKのリン酸化が亢進していることが明らかになり, これに先行して2週目あるいは4週目にはMKP-1の発現低下が認められた。以上の結果より, 肥大化脂肪細胞におけるMCP-1発現亢進は核内でのERKの活性化を介しており, ERKの持続的な活性化には上流キナーゼであるMEKの活性化とMKP-1の発現低下が関与する可能性が示唆された。

3. 脂肪細胞の肥大化におけるMKP-1過剰発現はERKリン酸化とMCP-1発現増加を抑制する

肥大化脂肪細胞においてERKの持続活性化によるMCP-1の発現亢進がMKP-1発現低下を介するかを検討するため, 肥大化脂肪細胞にMKP-1遺伝子を導入し, MCP-1の発現に及ぼす影響を検討した。肥大化脂肪細胞にはアデノウイルスベクターを用いた外来性の遺伝子導入が困難であるが, この少なくとも一部は脂肪細胞におけるアデノウイルス受容体CAR (cox sackie-adenovirus receptor)の発現が極めて少量であることによる。本研究ではレトロウイルスベクターを用いてCARを安定発現するCAR-3T3-L1脂肪細胞株を作製し, この脂肪細胞を肥大化させた後にアデノウイルスベクターによりMKP-1遺伝子を導入し, MKP-1のタンパク質量を非肥大化脂肪細胞の約80%まで回復させることに成功した(図1)。この時, 脂肪細胞肥大化に伴って増加したERKのリン酸化が抑制されると共にMCP-1の遺伝子発現は非肥大化脂肪細胞と同程度まで低下した。興味深いことに, MKP-1を回復させた

肥大化脂肪細胞では, 中性脂肪蓄積や糖取込み能の程度には変化が認められなかったが, IL-6の発現増加やアディポネクチンの発現低下のような脂肪細胞の炎症性変化は改善されていた(図2)。

おわりに

本研究では脂肪細胞の肥大化過程においてMKP-1が遺伝子発現レベルで持続的に抑制されることを初めて明らかにした。従来, 脂肪細胞の肥大化過程には小胞体ストレス, 酸化ストレス, 低酸素ストレスなどが関与する可能性が示唆されているが⁸⁻¹⁰⁾, 本研究により, 脂肪細胞の肥大化に伴うMKP-1の発現低下がERKの活性化を介してMCP-1の発現増加をもたらすことが明らかになり, 肥満の脂肪組織の炎症性変化におけるMKP-1の病態生理的意義が示唆された。また, 3T3-L1の長期間培養は脂肪細胞肥大化に伴うアディポサイトカイン産生破綻の分子機構を検討するための適切なモデルになると考えられた。本研究により得られたCAR-3T3-L1脂肪細胞ではアデノウイルスによる遺伝子導入の効率が著しく向上するため, 脂肪細胞の分化や肥大化の分子機構を検討する有用な手段になると考えられた。最近, MKP-1ノックアウトマウスを用いた検討により, MKP-1が自然免疫反応の抑制因子として作用することが報告されたが^{11, 12)}, 本研究により, 肥大化脂肪細胞においてもMKP-1は脂肪細胞の分化や中性脂肪蓄積に影響を及ぼすことなく, アディポサイトカイン産生破綻を改善することが明らかになった。以上より, 肥大化脂肪細胞において低下したMKP-1発現を回復させることは肥満の脂肪組織の炎症性変化や全身の糖代謝障害の改善につながる可能性が示唆された¹³⁾。

謝辞

本研究を行うにあたり, ご協力頂きました諸先生方に感謝致します。

文献

- 1) Takahashi K, Mizuarai S, Araki H, et al : Adiposity elevates plasma MCP-1 levels leading to the increased CD11b-positive monocytes in mice. *J Biol Chem* 2003, **278** : 46654-46660.
- 2) Kamei N, Tobe K, Suzuki R, et al. : Overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 in adipose tissues causes macrophage recruitment and insulin resistance. *J Biol Chem* 2006, **281** : 26602-26614.
- 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) Weisberg SP, Hunter D, Huber R, et al. : CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest* 2006, **116** : 115-124.
- 5) Bost F, Aouadi M, Caron L, et al. : The extracellular signal-regulated kinase isoform ERK1 is specifically required for in vitro and in vivo adipogenesis. *Diabetes* 2005, **54** : 402-411.
- 6) Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* 2002, **420** : 333-336.
- 7) Sakaue H, Ogawa W, Nakamura T, et al. : Role of MAPK phosphatase-1 (MKP-1) in adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2004, **279** : 39951-39957.
- 8) Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, et al. : Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 2004, **306** : 457-461.
- 9) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. : Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004, **114** : 1752-1761.
- 10) Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K,

- et al. : Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes* 2007, **56** : 901-911.
- 11) Salojin KV, Owusu IB, Millerchip KA, et al. : Essential role of MAPK phosphatase-1 in the negative control of innate immune responses. *J Immunol* 2006, 176 : 1899-1907.
- 12) Zhao Q, Wang X, Nelin LD, et al. : MAP kinase phosphatase 1 controls innate immune responses and suppresses endotoxic shock. *J Exp Med* 2006, **203** : 131-140.
- 13) Ito A, Suganami T, Miyamoto Y, et al. Role of MAPK phosphatase-1 in the induction of monocyte chemoattractant protein-1 during the course of adipocyte hypertrophy. *J Biol Chem* 2007, **282** : 25445-25452.

*本論文の内容は第5回若手研究者奨励賞の受賞対象となったものである