

トピックス

## 細胞移植法によるTNF- 高発現マウスにおける インスリン抵抗性の検討

千葉大学大学院医学研究院細胞治療学

柴崎 学, 高橋 和男, 伊東 尚浩, 齋藤 康

千葉大学大学院医学研究院臨床遺伝子応用医学

武城 英明

### はじめに

内臓脂肪の蓄積はインスリン抵抗性の臨床的指標となることが知られ、内臓脂肪蓄積を示す肥満患者には高脂血症、高血圧、耐糖能異常などの代謝異常疾患を合併する例が多く認められる<sup>1,2)</sup>。しかし、肥満にともなうこれらの代謝異常を生じる分子メカニズムの詳細は不明の点が多い。内臓領域の脂肪細胞は皮下領域の脂肪細胞とは異なる性質を有していることがこれまでにわかっており、これらの性質の違いが内臓脂肪蓄積によるインスリン抵抗性や高インスリン血症の発症に関与することが示唆されている<sup>3)</sup>。例えば、内臓および皮下脂肪組織由来の培養脂肪細胞の増殖能および脂質代謝能が互いに異なる<sup>4)</sup>こと、また両脂肪組織の間では異なる遺伝子発現パターンが認められ、特に内臓脂肪でplasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)など特異的に発現する遺伝子が同定されている<sup>5)</sup>ことが報告されている。しかし、内臓および皮下脂肪組織由来の細胞間にこのような機能の違いがみられる理由は未だ明らかになっていない。

### 1. 細胞移植法を用いたTNF- 高発現マウスの作製と解析

肥満合併症の出現にはインスリン抵抗性が重要な役割を果たしており、その起因物質の1つとしてtumor necrosis factor- (TNF-) が知られている。そこでわれわれは細胞移植法を用いて高TNF- 血症を呈する病態モデルを作製し、TNF- のインスリン抵抗性における役割を検討した。

TNF- 高発現マウス(TNF- 移植群)は、ヒトTNF- cDNAを安定導入したCHO細胞を8週齢のICR系ヌードマウス背部皮下に移植することにより作製した。対照群として発現ベクターのみの安定導入細胞を移植したマウスを用いた。TNF- 移植群では細胞移植4週間後に血中ヒトTNF- 濃度は $2173 \pm 1642$  pg/mlに達したが、対照群における血中濃度は検出限界以下であった。また細胞移植後4週間にわたって、TNF- 移植群および対照群ではともに体重増加を認め、両群間で有意な体重の差はみられなかった。そこで細胞移植後28日目に以下の検討を行った。

空腹時における血糖値は両群間で有意差を認めなかったが、空腹時血中イ

ンスリン値はTNF- 移植群において対照群に比べ有意に高値を示した( $0.47 \pm 0.17$  vs  $0.19 \pm 0.07$  ng/ml,  $p < 0.05$ )。次に経口糖負荷試験を行った。糖負荷後の血糖値は両群間で有意差を認めなかったが、血中インスリン値が空腹時に加え、糖負荷15分および30分後にTNF- 移植群において対照群と比較して有意に高値を示した(糖負荷15分後： $1.27 \pm 0.16$  vs  $0.76 \pm 0.22$  ng/ml,  $p < 0.001$ )。また、血中TNF- 濃度と糖負荷後の(血糖頂値/インスリン値)比との間には負の相関( $r = -0.956$ ,  $p < 0.001$ )が認められた<sup>6)</sup>。これらの結果から、高TNF- 血症モデル動物でインスリン抵抗性が惹起されることが明らかになった。

### 2. 細胞移植法による脂肪蓄積モデルマウスの解析

そこで次に内臓脂肪および皮下脂肪領域への脂肪蓄積モデル動物を作製し、内臓脂肪と皮下脂肪の性質の違いがこれらの組織の解剖学的な局在に起因するものであるかどうかについて検討を行った。

内臓脂肪および皮下脂肪蓄積モデルマウスは、前脂肪細胞株である3T3-L1をICR系ヌードマウスの内臓(腸間膜)脂肪領域あるいは皮下脂肪領域にそれぞれ移植することにより作製した。対照群として各部位にPBSのみを注入したマウスを用いた。細胞移植4週間後に内臓脂肪蓄積マウスの血中TNF- 濃度は、皮下脂肪移植マウスおよび対照群に比較して有意に高値を示した。また細胞移植後4週間にわたり、内臓脂肪、皮下脂肪蓄積マウスおよび対照群ではいずれも体重の増加が認められ、各群の体重間に有意な差はみられなかった。

これらのモデルマウスに対して経口

糖負荷試験を行ったところ, 内臓脂肪蓄積マウスと対照群の間で糖負荷後の血糖値には有意差を認めなかったが, 糖負荷後の内臓脂肪蓄積マウスの血中インスリン値が対照群と比較して有意に高値を示した<sup>6)</sup>. これに対し, 皮下脂肪蓄積マウスにおいては, 糖負荷後の血糖値および血中インスリン値が対照群に比べ有意に低値を示した. これらの結果より, 移植した前脂肪細胞の機能は周囲の環境の影響を受けて変化し得ることが示唆され, また内臓脂肪蓄積が皮下脂肪蓄積とは異なり血中TNF- $\alpha$ 濃度を上昇させ, さらにインスリン感受性の低下を引き起こすことが明らかとなった.

### おわりに

以上のことから, インスリン抵抗性を基盤とする肥満合併症の出現において内臓脂肪蓄積がより重要な危険因子

であることが示唆された.

一般に, 病態解析モデルとしてノックアウトマウスやトランスジェニックマウスが用いられているが, これらのモデル動物の作製には長い時間と複雑な手間を必要とすることが多い. 本研究で使用した細胞移植法を用いた高発現モデルは, 成熟個体において病態の解析を行うにあたり簡便かつ有用なモデル系になり得ると考えられる.

### 文 献

- 1) Suzuki R, Watanabe S, Hirai Y, et al.: Abdominal wall fat index, estimated by ultrasonography, for assessment of the ratio of visceral fat to subcutaneous fat in the abdomen. *Am J Med* 1993, 95 : 309-314.
- 2) Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokunaga K, et al.: Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity.

*Metabolism* 1987, 36 : 54-59.

- 3) Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, et al.: Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995, 95 : 2409-2415.
- 4) Inadera H, Ishikawa Y, Shirai K, et al.: Proliferation and triglyceride synthesizing activities of fibroblast-like cells derived from epididymal and subcutaneous adipose tissues of rats. *Scand J Clin Lab Invest* 1993, 53 : 225-229.
- 5) Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, et al.: Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: Possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med* 1996, 2 : 800-803.
- 6) Shibasaki M, Takahashi K, Itou T, et al.: Alterations of insulin sensitivity by the implantation of 3T3-L1 in nude mice. A role for TNF- $\alpha$ ? *Diabetologia* 2002, 45 : 518-526.