

## 脂肪組織炎症・線維化の機序解明と予防成分の探索

田 中 都

東京医科歯科大学分子内分泌代謝学分野 特任助教  
(現 名古屋大学環境医学研究所分子代謝医学分野 助教)

### 緒 言

脂肪組織の最も重要な機能は余剰エネルギーを中性脂肪として蓄える代謝機能であり、生体の栄養状態に対応してエネルギーの出納は巧妙に制御されている。脂肪萎縮症に代表される脂肪組織への脂肪蓄積能の低下は、異所性脂肪蓄積を促進し、極度の脂肪肝、インスリン抵抗性などを惹起することから、脂肪組織への脂肪蓄積の重要性が示唆される。一方、筆者らは、脂肪組織炎症・線維化により脂肪蓄積能が低下したマウスにおいて著明な脂肪肝を認めることを見出した<sup>1)</sup>。すなわち、脂肪組織炎症に引き続いて生じる間質線維化が、脂肪細胞の肥大化を制限し、持続的な遊離脂肪酸の放出を介して異所性脂肪の蓄積や臓器機能障害に繋がると想定される。近年、脂肪組織における中性脂肪蓄積・放出のバランスは、交感神経系やインスリンなどの液性因子による制御のみならず、慢性炎症による制御が注目されている。例えば、肥満症例の脂肪組織線維化は脂肪細胞のサイズと逆相関することが臨床的に知られている。

我々は、これまでに肥満脂肪組織に浸潤するマクロファージに焦点を当て、マクロファージと脂肪細胞がそれぞれの液性因子を介して互いに炎症を増悪させ、その結果、脂肪組織全体として脂肪組織由来ホルモン(アディポサイトカイン)の産生調節破綻が生じ、メタボリック症候群の起点が形成されることを明らかにしてきた<sup>2)</sup>。さらに、脂肪組織炎症の新たな調節因子として飽和脂肪酸により脂肪組織マクロファージに発現誘導される macrophage-inducible C-type lectin (Mincle) を同定し、脂肪組織炎症に及ぼす Mincle の意義を検討してきた<sup>3)</sup>。Mincle は自然免疫に重要な病原体センサーと考えられていたが、ごく最近、我々は Mincle 欠損マウスが肥満に伴う脂肪組織線維化に対して抵抗性を示すこと、異所性脂肪蓄積やインスリン抵抗性が軽減することを見出した<sup>4)</sup>。興味深いことに、Mincle は脂肪組織炎症の特徴的な所見である crown-like structure (CLS) 周囲に

局在する。CLS は細胞死に陥った脂肪細胞をマクロファージが取り囲み、貪食・処理をする組織像と考えられている。Mincle は死細胞を認識するセンサーとしても作用することから<sup>5)</sup>、Mincle-内因性リガンド系による脂肪組織炎症・線維化の増悪やメタボリック症候群進展の可能性が強く示唆される。

本研究では、Mincle 活性化に関わる内因性リガンドの探索ならびに脂肪組織線維化促進機構の解明を通し、脂肪組織線維化の分子機構解明と脂肪組織線維化を介する疾病予防方法の提案を目的とする。

### 実験方法

本研究では、線維化の程度が異なる種々の脂肪組織を用いて Mincle 内因性リガンドを同定することを目的としている。肥満の脂肪組織では線維化が認められるが、作製に多大な時間を要するため、短期間で脂肪組織線維化を惹起するマウスモデルの作製を行った。これまで報告されている Mincle リガンドのほとんどが脂溶性成分であるため、脂溶性成分に注目し、短期脂肪組織線維化モデルで得られる線維化脂肪組織を用いて脂溶性成分を分画するための脂質抽出条件を検討した。

#### 1. 短期脂肪組織線維化モデルの作製

腎や肝などの組織において、虚血-再灌流障害は組織線維化をもたらすことが知られているため、内臓脂肪組織の虚血-再灌流障害モデルの作製を試みた。すなわち、既報<sup>6)</sup>を参考に、8週齢雄性 C57BL/6J マウスの精巣上体周囲脂肪組織の栄養血管を血管クリップで遮断した後、再灌流した。再灌流後、経時的に精巣上体周囲脂肪組織を回収し、組織の炎症、線維化を評価した。

#### 2. 短期脂肪組織線維化モデルからの脂質抽出

短期脂肪組織線維化モデルで得られた線維化脂肪組織を用いて、脂溶性成分抽出を試みた。脂肪組織における

脂溶性成分は大半が中性脂肪であるため、まず、中性脂肪が除去可能か否か、さらに中性脂肪以外の脂溶性成分の抽出が可能か否かについて検討した。

結 果

1. 短期脂肪組織線維化モデルの作製

精巣上部周囲脂肪組織の栄養血管をクリップで遮断し、再灌流後1、3、7、14日目に精巣上部周囲脂肪組織を採取し、炎症、線維化について遺伝子発現を検討したところ、再灌流後1日目に急性の炎症が生じ、その後、

いったん収束した後に14日目にかけて炎症が蔓延化し、線維化が生じることが明らかとなった（図1； $n=4$ ）。

2. 短期脂肪組織線維化モデルからの脂質抽出

いくつかの方法を施行したが、既報<sup>7)</sup>を参考に、ジクロロエタンを用いた方法が最も中性脂肪除去ならびに中性脂肪以外の脂溶性成分抽出が効果的に行えることがわかった（図2）。

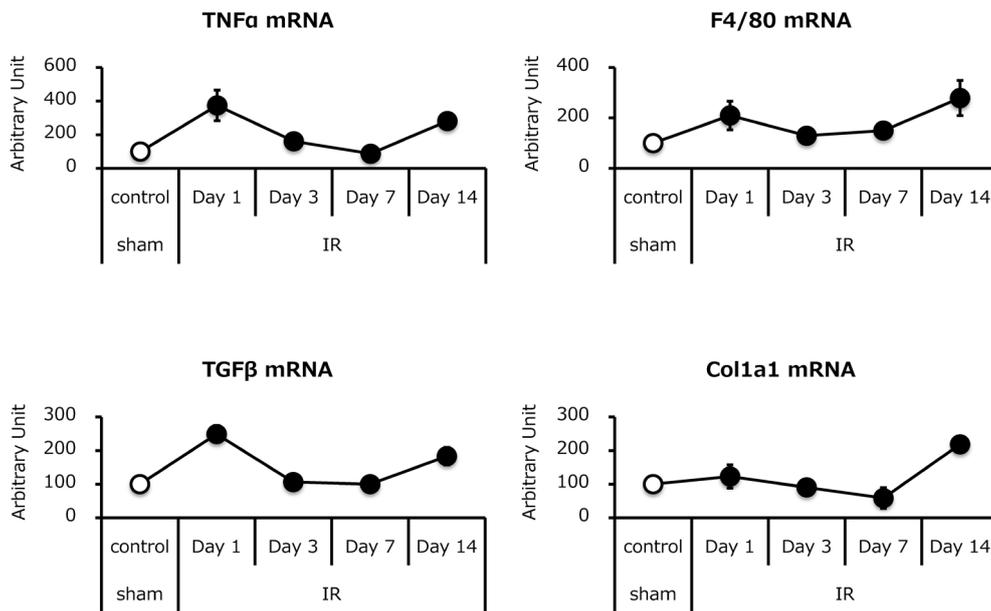


図1 短期脂肪組織線維化モデルの作製

虚血-再灌流（IR）により、急性炎症後、炎症が蔓延化し、線維化がもたらされる可能性が見出された（ $n=4$ ）。

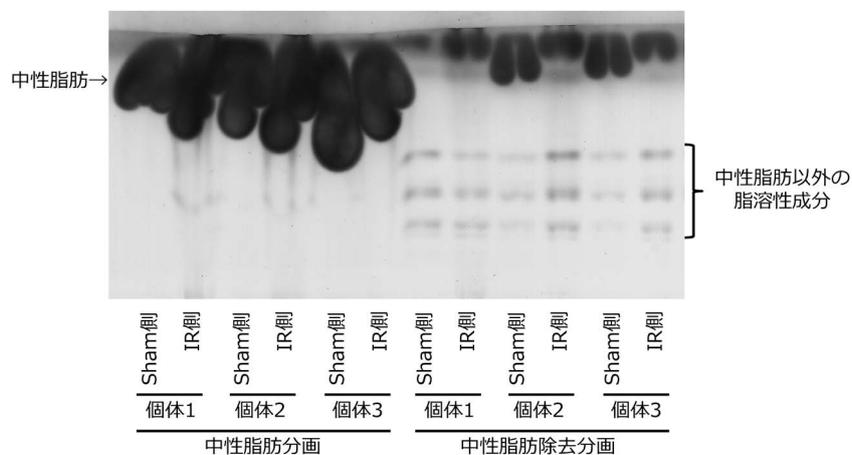


図2 脂肪組織からの中性脂肪除去ならびに脂溶性成分抽出（TLC展開図）

ジクロロエタン処理により、中性脂肪除去と中性脂肪以外の脂溶性成分抽出が可能であることがわかった。

## 考 察

Mincle 活性化に関わる内因性リガンドの探索ならびに脂肪組織線維化促進機構の解明のため、短期間で脂肪組織の線維化を生じるモデルの作製を試みた。腎や肝などの障害モデルとして用いられる虚血-再灌流障害を内臓脂肪組織において施行したところ、通常、マウスへ高脂肪食を4ヶ月以上負荷して認められる脂肪組織の線維化が、2週間で形成された。現在、高脂肪食負荷による脂肪組織線維化と本短期モデルによる脂肪組織線維化について比較検討し、肥満に伴う脂肪組織線維化の分子機構解明に有意義に使用できるモデルか否か検討中である。なお、肥満の脂肪組織で認められるCLSは、本短期モデルにおいても形成されることを確認している。

本短期モデルにより得られた脂肪組織から、中性脂肪除去ならびに中性脂肪以外の脂溶性成分の抽出を試みたところ、一般的に用いられる方法では中性脂肪除去が困難であった。一方、ジクロロエタンを用いた方法では、中性脂肪以外の画分に若干の中性脂肪は混入するが、大部分の中性脂肪は除去できていることがわかった。また、コントロール (sham) 側と虚血-再灌流 (IR) 側の脂肪組織の脂溶性成分に若干の成分差が認められることがわかった。現在、これらのサンプルを用いて、Mincle 活性化能を検討中である。

今後、本短期モデルをさらに詳細に解析し、Mincle 内因性リガンドの探索のみならず、マウスへ種々の飼料を投与して本モデルを適用することにより、脂肪組織線維化抑制食品成分の探索などにも応用可能なモデルへと発展させていきたいと考えている。

## 要 約

脂肪組織の最も重要な機能は余剰エネルギーを中性脂肪として蓄える代謝機能であり、生体の栄養状態に対応してエネルギーの出納は巧妙に制御されている。脂肪萎縮症に代表される脂肪組織への脂肪蓄積能の低下は、異所性脂肪蓄積を促進し、極度の脂肪肝、インスリン抵抗性などを惹起することから、脂肪組織への脂肪蓄積の重要性が示唆される。脂肪組織炎症・線維化により脂肪蓄積能が低下したマウスでは著明な脂肪肝を認めること、脂肪組織炎症の新たな調節因子 macrophage-inducible C-type lectin (Mincle) を欠損するマウスでは、脂肪組織炎症・線維化ならびに脂肪肝が軽減することから、脂肪組織線維化の分子機構解明と Mincle 内因性リガンド探索を試みた。短期間で脂肪組織線維化を評価できる短期脂肪組織線維化モデルを確立し、脂肪組織から中性脂肪以外の脂質成分の抽出に成功した。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人三島海雲記念財団に心より深謝申し上げます。

## 文 献

- 1) M. Itoh, et al.: *Am. J. Pathol.*, **179**, 2455-2464, 2011.
- 2) T. Suganami, et al.: *Endocr. J.*, **59**, 849-857, 2012.
- 3) M. Ichioka, et al.: *Diabetes*, **60**, 819-826, 2011.
- 4) M. Tanaka, et al.: *Nat. Commun.*, **5**, 4982, 2014.
- 5) S. Yamasaki, et al.: *Nat. Immunol.*, **9**, 1179-1188, 2008.
- 6) H. Suga, et al.: *Stem Cells*, **27**, 238-249, 2009.
- 7) Y. Suzuki, K. Kabayama: *J. Lipid Res.*, **53**, 599-608, 2012.