

# 肥満・脂肪肝形成における免疫プロテアソームの 役割の解明と新規治療法の開発

自治医科大学 分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部

講師 木村 博昭

(共同研究者)

自治医科大学 分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部 教授 高橋 将文

## はじめに

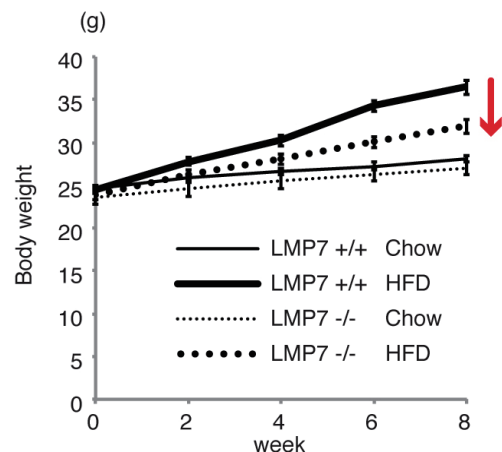
近年、中高年の健康問題であるメタボリック症候群（MS）の患者数は増加しており、その予防・治療法の開発が喫緊の課題となっている。MSの病態に、代謝だけでなく炎症反応も関与することが報告されている<sup>1,2</sup>が、未知の部分が多い。我々は、橋本病（慢性甲状腺炎）のマウスモデルにおいて、免疫プロテアソームが病態発現に関与することを見出した<sup>3</sup>。このモデルでは、炎症だけでなく、内分泌器官である甲状腺の機能にも免疫プロテアソームが関与することがわかった。そこで、内分泌代謝の異常を伴うMSにも免疫プロテアソームが関与するかもしれないと考えた。肥満マウスの脂肪における免疫プロテアソームの発現を検討したところ、免疫染色により、脂肪組織における免疫プロテアソームの発現が検出された。

本研究では、高脂肪食負荷により誘導される肥満病態形成の炎症に免疫プロテアソームが関与しているという仮説を立て、免疫プロテアソームのサブユニットの一つであるLMP7の役割について解析した。

## 結 果

肥満・脂肪蓄積における免疫プロテアソームの役割を検討するため、野生型と免疫プロテアソームサブユニットの一つであるLMP7を欠損したマウスに、通常食（Normal Chow）あるいは高脂肪食（HFD: リサーチダイエツト社D12492）を8週間与えたところ、摂食量に差はなかったが（data not shown）、LMP7欠損により高脂肪食投与群のマウスの体重増加が顕著に抑制された（図1）。それらの高脂肪食を投与したマウスを6時間以上絶食後にSacrificeし、直ちに血糖値・体重を測定

図1 LMP7欠損により体重増加が抑制された



した。採血後に組織を摘出し、肝臓、精巣上体脂肪・腸間膜脂肪・腎周囲脂肪などの内臓脂肪、皮下脂肪の重量をそれぞれ測定し、マウスの体重あたりの組織重量を算定した。すると、LMP7欠損により内臓脂肪でも皮下脂肪でも、脂肪蓄積が顕著に抑制されることがわかった(図2)。高脂肪食の投与期間が8週では、肝臓における脂肪蓄積量がそれほど多くなかったため、マウス系統間の顕著な差はみられなかった (data not shown)。空腹時血糖値・血中総コレステロールや中性脂肪を測定したところ、高脂肪食によるそ

れらの上昇が改善されることがわかった(図3)。耐糖能試験やインスリン抵抗性試験により、LMP7欠損による耐糖能やインスリン感受性の改善も顕著であることがわかった(図4)。

図2 LMP7欠損により内臓(精巣上体・腸間膜・腎周囲)・皮下脂肪蓄積が抑制された

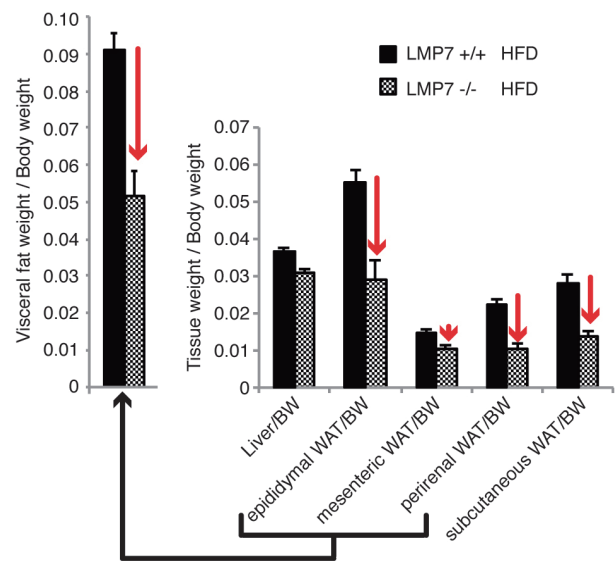


図3 LMP7欠損により、高脂肪食による血糖値・血清総コレステロール・中性脂肪が抑制された

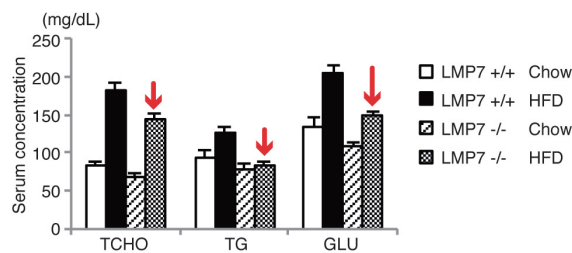


図5 血球・組織両方のLMP7が高脂肪食による肥満・脂肪蓄積に関与していた

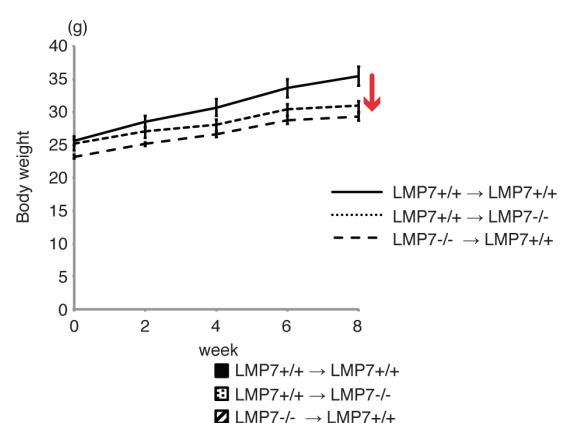
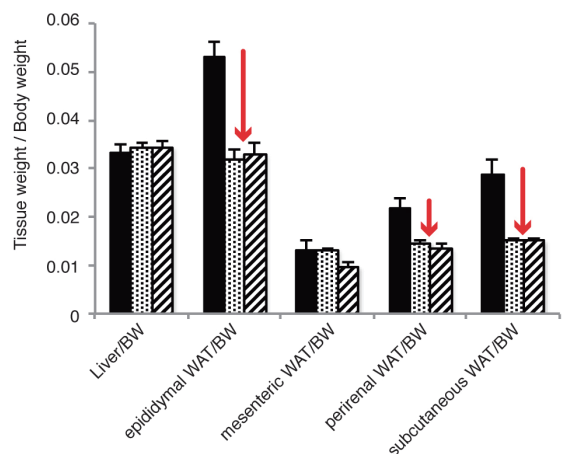
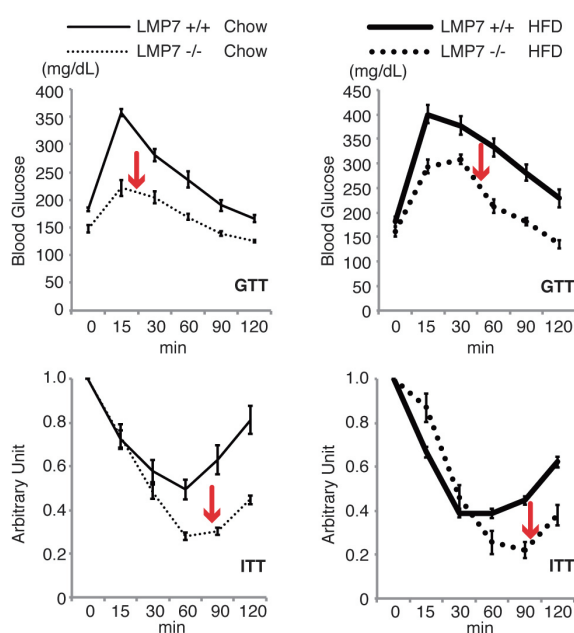


図4 LMP7欠損により耐糖能・インスリン感受性が改善された



骨髄移植によるキメラマウスを使って、血球系（免疫）細胞と組織細胞のどちらのLMP7が、高脂肪食による肥満・脂肪蓄積の誘導に関わっているかを検討したところ、血球系（免疫）細胞・組織細胞のどちらのLMP7も重要な役割を担っていることがわかった（図5）。

図6 LMP7欠損により内臓脂肪へのマクロファージ浸潤が抑制された

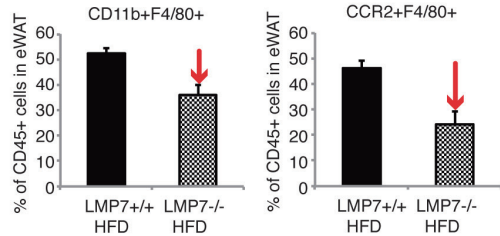


図8 LMP7欠損によりオリーブオイル投与後の血中中性脂肪の上昇が抑制された

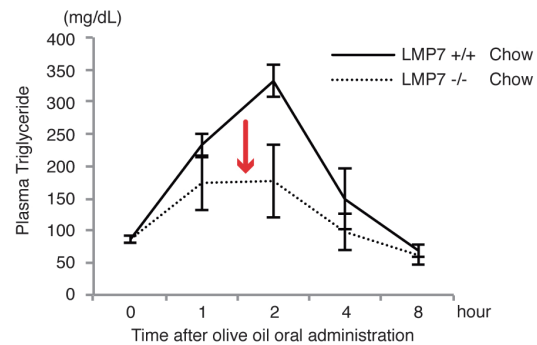


図7 LMP7欠損により糞重量や糞中脂質成分が増加した

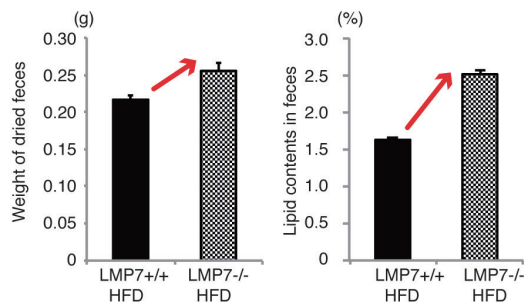
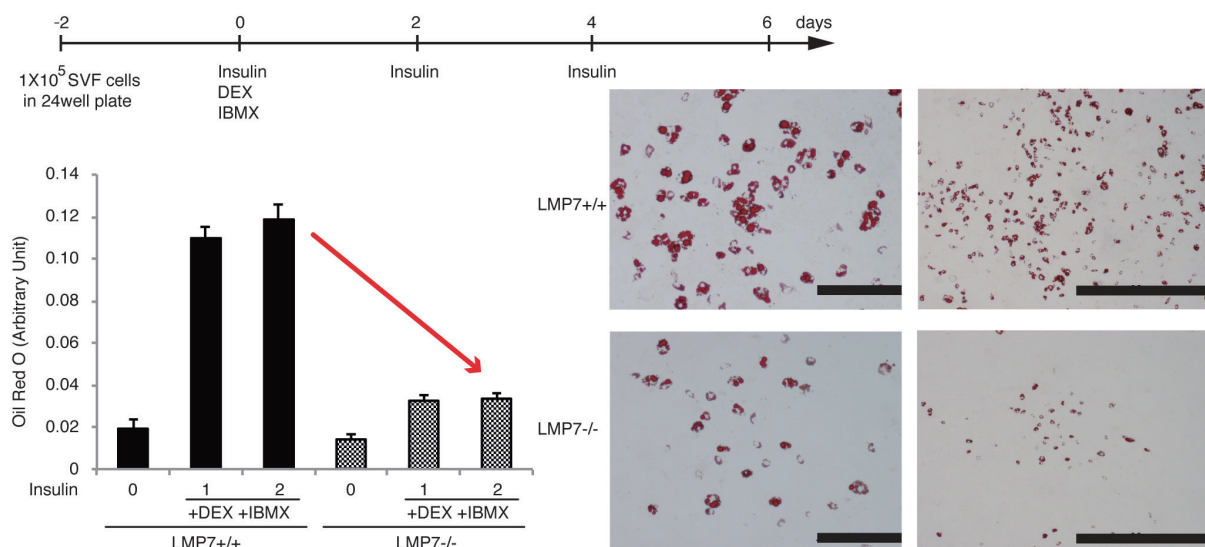


図9 LMP7欠損により脂肪前駆細胞の脂肪細胞への分化が抑制された（分化した脂肪細胞はOil Red Oで赤色に染色されている）



免疫染色により、精巣上体へのマクロファージ浸潤に顕著な差がみられたので（data not shown）、精巣上体脂肪内に浸潤している免疫細胞をフローサイトメトリーで解析したところ、脂肪組織へのマクロファージ浸潤がLMP7欠損により顕著に抑制されていることがわかった（図6）。マクロファージの炎症性サイトカインの産生もLMP7欠損により抑制されていた（data not shown）。通常食または高脂肪食のマウスの酸素消費量を測定したが、顕著な差はみられなかった（data not shown）。そこで、排泄物である糞に着目した。高脂肪食負荷時の糞の

重量と糞中の脂質量を測定したところ、LMP7欠損により増加していることがわかった(図7)。また、オリーブオイルを経口投与し、経時的に血中中性脂肪を測定すると、LMP7欠損マウスでは中性脂肪の上昇が抑制されていた(図8)。これらのことから、LMP7が脂質の消化・吸収・代謝に関与する可能性が示唆された。次に、脂肪前駆細胞を鼠径部の皮下脂肪組織から調製・培養した。この脂肪前駆細胞の脂肪細胞への分化能を検討したところ、LMP7欠損により脂肪細胞への分化が抑制されていることがわかった(図9)。さらに、遺伝子発現などのデータを加えて、現在、投稿準備中である。

## 考 察

本研究により、高脂肪食による肥満と脂肪蓄積に、免疫プロテアソームのLMP7が関与することが明らかとなった。また、脂肪肝の形成は微弱だったため、顕著な差がみられなかった。高脂肪食投与期間をもっと長くするなど、条件を変える必要があると考えられた。脂肪前駆細胞の脂肪細胞への分化がLMP7欠損によって抑制された。LMP7はプロテアソームのサブユニットの一つであるという観点から、細胞内の転写因子等の発現・分解等にも関与していることが考えられ、脂肪細胞分化の転写因子の発現・分解にも関与し、脂肪細胞分化を制御しているかもしれない。この点についてはさらに解析を進めている。

免疫プロテアソームは、その名前から、免疫細胞での発現に着目されており、自己免疫疾患などの炎症性の病態に関与するため、その阻害剤による病態改善が報告されている<sup>4-6</sup>。本研究により、血球(免疫)細胞だけでなく組織細胞においてもLMP7の欠損による肥満や脂肪蓄積が改善されたことから、LMP7は炎症だけでなく、組織中の、おそらく脂質代謝に関与することが示唆された。本研究では、LMP7を欠損しているマウスや細胞を使用しているため、LMP7を抑制することにより、肥満や脂肪蓄積の予防効果は得られるものと考えられる。しかし、すでに肥満になっている状態から、LMP7の発現を抑えることによる治療効果は評価できていない。今後は、その治療効果の検討などを行っていきたい。

## 要 約

肥満や脂肪蓄積には炎症に関与している。本研究では、免疫プロテアソームサブユニットのLMP7が、高脂肪食により誘導される肥満・脂肪蓄積に関与していることがわかった。血液細胞では、マクロファージでのLMP7の発現に関与していることが示唆された。LMP7は脂質の消化・吸収・代謝系に関与する可能性があることと、脂肪細胞の分化に関与していることがわかった。このことから、組織細胞におけるLMP7も脂肪蓄積に関与することが示唆された。今後、LMP7を標的とした肥満の予防及び治療法の開発が進めば、中高年の健康増進にもつながることが期待される。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成をいただきました公益財団法人 大和証券ヘルス財団に深謝いたします。

## 文 献

1. Kanneganti TD, Dixit VD. Immunological complications of obesity. *Nat Immunol.* 13(8): 707-712 (2012)
2. Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, Ravussin E, Stephens JM, Dixit VD. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med.* 17 (2) : 179-188 (2011)
3. Kimura HJ, Chen CY, Rocchi R, Landek-Salgado MA, Suzuki K, Kimura M, Tzou SC, Rose NR, Caturegli P. Immunoproteasome overexpression underlies the pathogenesis of thyroid oncocyte and primary hypothyroidism: studies in humans and mice. *PLoS ONE.* 4 (11) : e7857 (2009)
4. Muchamuel T, Basler M, Aujay MA, Suzuki E, Kalim KW, Lauer C, Sylvain C, Ring ER, Shields J, Jiang J, Shwonek P, Parlati F, Demo SD, Bennett MK, Kirk CJ, Groettrup M. A selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP7 blocks cytokine production and attenuates progression of experimental arthritis. *Nat Med.* 15 (7) : 781-787 (2009)
5. Basler M, Dajee M, Moll C, Groettrup M, Kirk CJ. Prevention of experimental colitis by a selective inhibitor of the immunoproteasome. *J Immunol.* 185 (1) :634-641 (2010)
6. Basler M, Mundt S, Muchamuel T, Moll C, Jiang J, Groettrup M, Kirk CJ. Inhibition of the immunoproteasome ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *EMBO Mol Med.* 6(2) :226-238 (2014)