

メタボリックシンドロームにおける脂肪組織炎症に寄与する バイオマーカーの探索

東京大学 循環器内科・システム疾患生命科学による先端医療技術開発拠点

特任研究員（兼務）

自治医科大学 分子病態研究部

教授（現職） 西村 智

はじめに

最近の研究により各種生活習慣病の背景には、慢性炎症を基盤とした異常な細胞間作用、特に免疫・炎症性細胞の活性化が生体内で生じていることが明らかになった。西村は、肥満に伴う脂肪組織リモデリング過程を明らかにし、炎症との関わり、特に免疫細胞にアプローチしてきた。肥満脂肪組織にはCD8陽性T細胞が存在し肥満・糖尿病病態に寄与していた。また、脂肪組織には抗炎症作用を持った特異なB細胞が存在することを示した。さらに、脂質合成酵素オートタキシンに着目し、脂肪細胞分化に対する役割、さらにバイオマーカーとしての意義づけを検討した。

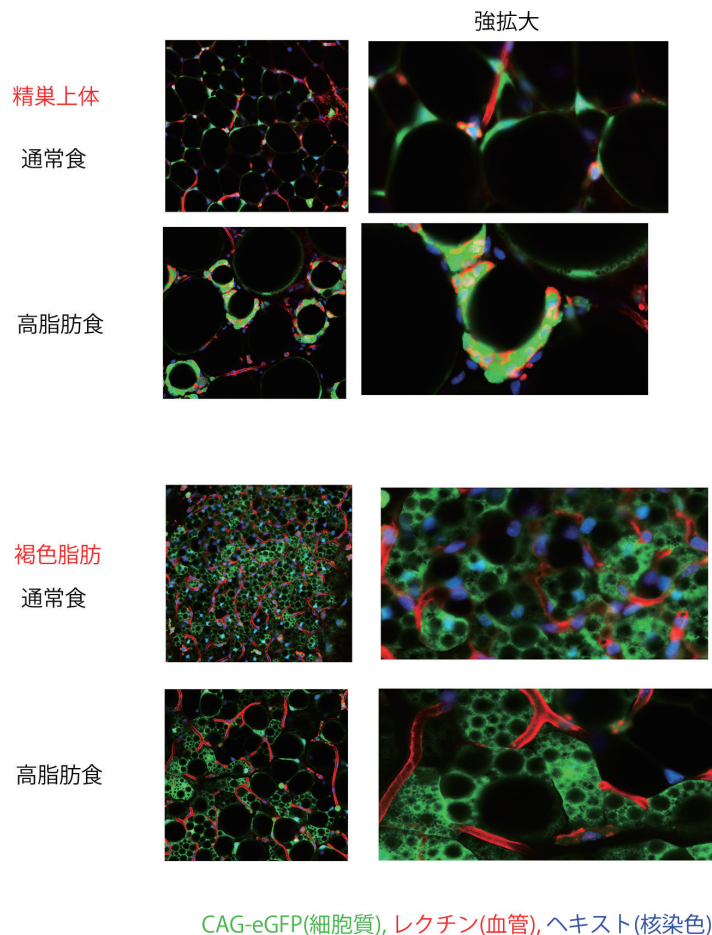
結 果

脂肪組織の生体イメージング手法の確立

最近の研究により、食生活の欧米化（高脂肪食など）に伴うメタボリックシンドロームや糖尿病の背景には慢性炎症が存在することが明らかになってきた。しかし、慢性炎症を基盤とする慢性疾患に関しては、その病態が不明であることから特効薬が存在せず、依然として多くの有病患者と高い死亡率を生ずる要因となっている。肥満病態では脂肪組織のみならず、免疫組織や腸管にも免疫異常が起き、これらの組織は異常なクロストークを形成していることが明らかになっているが、その詳細な生体内での分子メカニズムは不明である。脂肪組織には骨髄由来の活性化した、T細胞、マクロファージ、NK細胞が浸潤するが、遊走および賦活化について、その詳細なメカニズムは分かっていない。病態理解のためには、炎症に伴う生体内での細胞動態の異常、特に免疫・炎症性細胞の局所での生体内応答について、直接画像化して知見を得ることは必須であると言える。生体イメージングでは、従来の分子生物学的手法ではアプローチが困難であった、「まれな現象」「まれな細胞種」「動的変化」を捉えることが可能である。

我々は、独自に開発した「生体分子イメージング手法」を、肥満した脂肪組織に適応し、メタボリックシンドロームの病態にアプローチを行ってきた。我々の開発したイメージング

は、従来の手法ではアプローチできなかった細胞間相互作用を生体内で直接可視化するものであり、多くの研究領域において今後重要な役割を果たすと考えられる。



図：生体分子イメージングでみる肥満個体における白色・褐色脂肪組織の構築

高脂肪食負荷にともなう肥満脂肪組織のリモデリング過程が捉えられている

赤：蛍光レクチンによる血管染色、緑：CAG-eGFP発現による細胞質、青：ヘキストによる核染色

脂肪組織に内在する制御性B細胞の抗炎症作用

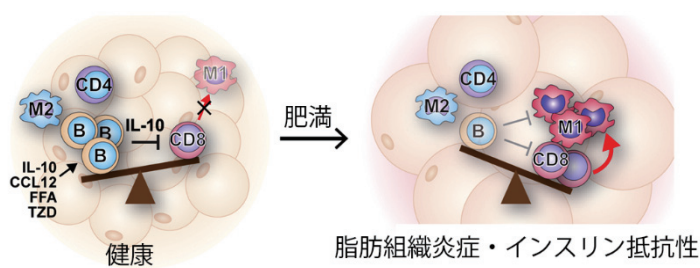
我々は、生体分子イメージング手法を脂肪組織に応用し、初期の炎症過程を明瞭に可視化し、肥満脂肪組織が炎症の場であることを直接証明しており、その過程では、脂肪組織にCD8陽性T細胞が浸潤していることを可視化・証明した。本研究ではさらにそれだけでなく、脂肪組織には多くの制御性B細胞が多量に存在していることが明らかになった。このB細胞（脂肪Breg）は通常のB1、B2細胞とは表面マーカーの発現が異なり、新たなサブセットの細胞であることが示された。サイトカイン産生能の検討では、脂肪BregはIL-10を無刺激でも高発現していた。これは、今まで報告されている制御性B細胞とは異なっている点であり、脂肪Bregの特異な形質を示している。B細胞特異的IL-10欠損マウスを作成したところ、脂

脂肪組織の炎症が惹起されインスリン抵抗性が増悪していた。つまり、脂肪Bregは脂肪組織の炎症を負に制御していることが示された。

脂肪Bregは皮下脂肪に特に多く存在しており、皮下脂肪の間質の30%を占めている。そして、このB細胞は肥満個体では質的・量的、ともに減少していた。肥満個体における脂肪組織炎症およびインスリン抵抗性の一部は、脂肪Bregの減少によって説明されると考えられた。

この知見はマウスのみならず、ヒトにおいても認められた。皮下脂肪組織の中のB細胞マーカーおよびIL-10の発現は、肥満したヒトにおいて減少していた。脂肪Bregの機能は種差を超えて適応されると考えられた。

以上の結果は2013年Cell Metabolismに掲載された。



図：免疫細胞による脂肪組織炎症制御メカニズム

オートタキシン(脂質生合成酵素)と肥満表現形

近年、動脈硬化性疾患の重大なリスク要因としてメタボリックシンドロームが注目されている。我々はまず、検診受診者に対し、一般の検診項目に加え、網羅的に各種血清修飾脂質、リゾホスファチジン酸の生合成酵素であるオートタキシン血清抗原量を測定し、メタボリックシンドロームやインスリン抵抗性の発症へのリン脂質・脂質生合成系の異常の関与を臨床・基礎両面から明らかにした。検診では、オートタキシンとBody Mass Index (BMI)、腹囲、血清アディポネクチン等に強い相関を認め、オートタキシンは肥満者・メタボリックシンドローム患者で有意に低下していた。多変量解析でもオートタキシンはBMIなどによって説明され、オートタキシンは慢性炎症を基盤とするメタボリックシンドロームの良いマーカーとなり得ると考えられた。

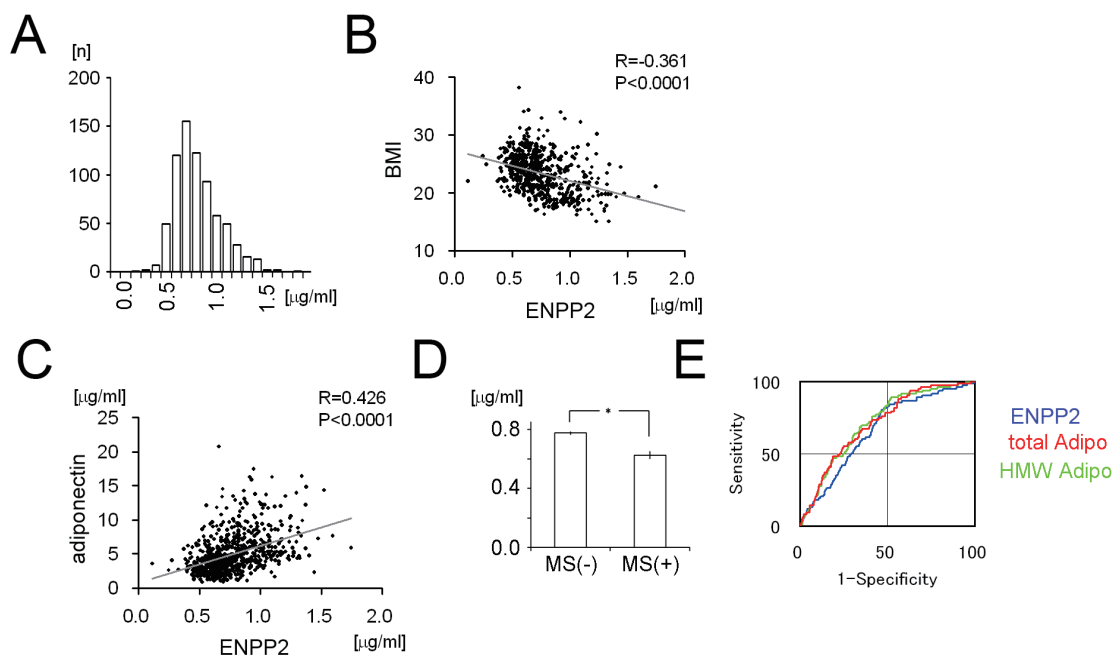
さらに、オートタキシンの生体での作用機序の解析を行うために、オートタキシンヘテロノックアウトマウス、オーバーエクスプレッションマウス、脂肪細胞特異的欠損マウスの作成を行った。その結果、脂肪組織、特に前駆脂肪細胞ではオートタキシンが高発現となっており、脂肪組織から分泌されるオートタキシンが血清レベルを規定している可能性が示唆された。さらに、腸管でもオートタキシンは高発現となっていた。高脂肪食負荷時には、欠損マウスでは脂肪組織の重量増加、脂肪細胞数の増加が抑えられていた。さらに、腸管における吸収能が変化し、褐色脂肪組織の機能は欠損により増加し、全身のエネルギー代謝が変化

していた。オートタキシンは腸管膜脂肪に高発現していることから、腸管膜機能を制御し、高脂肪食に伴う表現形を規定しているとも考えられた。

なお、肥満個体においてオートタキシン発現は低下しており、血清レベルの変化を説明すると考えられた。

さらに、我々は検診受診者に対し、一般の検診項目に加え、網羅的にオートタキシン血清抗原量、総・高分子量アディポネクチンを測定し、メタボリックシンドロームやインスリン抵抗性の発症へのリン脂質・脂質生合成系の異常の関与を明らかにした。検診における縦断的検討では、オートタキシンとBody Mass Index、腹囲、高分子量アディポネクチンに強い相関を認めた。ATXは肥満者・メタボリックシンドローム患者で有意に低下しており、オートタキシンは動脈硬化を発症する前段階の、慢性炎症を基盤とするメタボリックシンドロームの良いマーカーとなり得ると考えられた。

以上より、血清リン脂質とその生合成酵素は新規のメタボリックシンドロームに対する有用なバイオマーカーとなるだけでなく、新しい抗肥満・抗糖尿病治療の標的ともなり得ると考えられた。



図：オートタキシン（ENPP2）の血清バイオマーカーとしての意義づけ

A: ENPP2 血清値分布、B: BMI との相関、C: アディポネクチン値との相関、
D: MS（メタボリックシンドローム）の有無と血清 ENPP2 値、E: MS 診断への ROC 曲線

脂肪組織・腸管・リンパ系のバイオイメージングシステムの確立

現在ゲノム・エピゲノムレベルでは生命現象が確定されているにもかかわらず、生理学的・病態学的な生体への説明には多くの困難がある。特に生体の中でも代謝臓器の血管・間質で

は複数の細胞種が常に相互作用し、恒常性維持・生体保護の最前線となっている。代謝疾患などの生活習慣病では、これらの生理的機能が破綻し、最終的には慢性炎症を基盤とする組織リモデリングと機能異常による病態が形成される。低侵襲・初期治療を考えると、機能破綻を呈する前の段階を、生体内で捉えて治療する必要がある。しかし、従来型の臨床検査および分子生物学的手法でアプローチすることには限界があった。そこで、我々は生体における分子細胞クロストークを可視化する生体イメージングシステムを樹立し、脂肪組織・腸管・リンパ系の分子イメージングを行った。

脂肪組織および腸管の微小血管では高脂肪食に伴い炎症性細胞動態が引き起こされていた。すなわち、局所の血小板活性化、血流低下、相対的低酸素が生じ、白血球の接着・回転運動が増加していた。

さらに、腸管膜脂肪組織、動脈、静脈、リンパ管のイメージングシステムを確立した。今後は、高脂肪食負荷時の異常な免疫細胞の賦活化機構を生体内で検証していく予定である。

考 察

現在ゲノム・エピゲノムレベルでは生命現象が確定されているにもかかわらず、生理学的・病態学的な生体への説明には多くの困難がある。特に生体の中でも代謝臓器の血管・間質では複数の細胞種が常に相互作用し、恒常性維持・生体保護の最前線となっている。代謝疾患などの生活習慣病では、これらの生理的機能が破綻し、最終的には慢性炎症を基盤とする組織リモデリングと機能異常による病態が形成される。低侵襲・初期治療を考えると、機能破綻を呈する前の段階を、生体内で捉えて治療する必要がある、生体二光子分子イメージングは有効と考えられた。

要 約

脂肪組織の免疫恒常性と肥満に伴う慢性炎症に免疫細胞が関与していることを明らかにした。また、脂質生合成酵素オートタキシンが脂肪細胞分化にかかわり、さらに、バイオマーカーとしても臨床的に有用であることを明らかにした。

文 献

Expandable Megakaryocyte Cell Lines Enable Clinically Applicable Generation of Platelets from Human Induced Pluripotent Stem Cells

Nakamura S, Takayama N, Hirata S, Seo H, Endo H, Ochi K, Fujita K, Koike T, Harimoto K, Dohda T, Watanabe A, Okita K, Takahashi N, Sawaguchi A, Yamanaka S, Nakauchi H, **Nishimura S**, Eto K *Cell Stem Cell*, 2014 in publication.

Adipose natural regulatory B cells negatively control adipose tissue inflammation

Nishimura S, Manabe I, Takaki S, Nagaskai M, Ostu M, Yamashita H, Sugita J, Yoshimura K, Eto K, Komuro I, Kadowaki T, Nagai R
Cell Metabolism. 2013, 18, 759-766.

Inhibition of Stabilin-2 elevates circulating hyaluronic acid levels and prevents tumor metastasis

Hirose Y, Saijou E, Sugano Y, Takeshita F, **Nishimura S**, Nonaka H, Chen Y-R, Sekine K, Kido T, Nakamura T, Kato S, Kanke T, Nakamura K, Nagai R, Ochiya T, Miyajima A
PNAS 2012, 109 (11) :4263-8.

In vivo imaging visualizes discoid platelet aggregations without endothelium disruption and implicates contribution of inflammatory cytokine and integrin signaling.

Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Kakuta S, Iwakura Y, Takayama N, Ooehara J, Otsu M, Kamiya A, Petrich B, Urano T, Kadono T, Sato S, Aiba A, Yamashita H, Sugiura S, Kadowaki T, Nakauchi H, Eto K, Nagai R.
Blood. 2012 ;119 (8) :e45-56.