

令和元年6月3日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08419

研究課題名(和文) 肥満治療を目指した新規代謝調節性サイトカインの解析

研究課題名(英文) Analysis of novel metabolic disorder regulating cytokine

研究代表者

西條 栄子 (SAIJOU, EIKO)

東京大学・定量生命科学研究所・技術職員

研究者番号：60376647

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：IL-6ファミリーサイトカイン、IL-31が肥満に関連した代謝疾患に持つ役割を解析した。食事性肥満モデルマウスにIL-31を過剰発現すると、体重、白色脂肪重量、および血中レプチン濃度が減少し、血中ノルアドレナリンが上昇した。IL-31は血中のカテコールアミン類を上昇させ、褐色脂肪組織の熱産生を通じて、抗肥満効果を発揮していることが示唆された。マウス副腎のex vivo培養にIL-31を添加した結果、多量のノルアドレナリン放出が認められたことから、IL-31は直接副腎に作用し、ノルアドレナリンの放出を促すことが判明した。したがって、IL-31は肥満治療の標的となり得る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

安全かつ健康的に肥満を解消する「夢のやせ薬」は未だ存在していない。IL-6ファミリーサイトカイン、IL-31は脂肪分解を引き起こすにもかかわらず、産生された遊離脂肪酸がインスリン抵抗性を引き起こさない。体重減少とインスリン抵抗性の改善を引き起こす新たな抗肥満薬の候補となりうるため、解析を行った。

研究成果の概要(英文)：We investigate the role of IL-31 on obesity-induced metabolic disorders. Interestingly, overexpression of IL-31 in diet-induced obese mice significantly reduces body weight, epididymal WAT weight and blood leptin level. Furthermore, Overexpression of IL-31 significantly elevates blood concentration of noradrenaline, suggesting that IL-31 exerts anti-obesity effect via catecholamine induced thermogenesis in BAT. Addition of IL-31 on ex vivo culture of adrenal glands has markedly released noradrenaline, indicating IL-31 directly targets the adrenal glands. In conclusion, IL-31 is new attractive target for treating obesity.

研究分野：マウス疾患モデル解析

キーワード：サイトカイン カテコールアミン オンコスタチンM IL-31 ノルアドレナリン 抗肥満

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IL-31 は、Th2 型のリンパ球で産生されるサイトカインとして報告された、IL-6 ファミリーに属するサイトカインである。過剰発現により、マウスにアトピー様の皮膚炎を引き起こすことから、アレルギー性疾患の治療標的候補としての研究が進められているが、代謝との関連は不明であった。

我々は、現在まで IL-6 ファミリーの別のサイトカイン、OSM (oncostatin M) の生理作用に着目し、脂肪細胞分化に焦点を当て解析を行ってきた。OSM は脂肪細胞の分化、および骨髄の脂肪化を抑制するとともに (Miyaoka, Tanaka et al, 2006 JBC, Sato, Tanaka et al, 2014 PLOS ONE under revision)、肝臓の脂肪化を抑制する作用も持つ (Komori, Tanaka et al, 2013 JBC)。OSM は、IL-31 と受容体複合体のコンポーネント OSMR を共有しており、OSM 投与の効果は IL-31 によっても起きる可能性が考えられた。そこで我々は、IL-31 単独での生体への作用へと解析対象を広げることとした。

予備実験として、高脂肪食を与えて作製した肥満マウスに IL-31 を投与したところ、コントロールと比較して有意に体重が減少した。体重の減少は主に内臓脂肪の減少によるものであった。体重減少の過程で摂餌量に有意差がなかったことから、IL-31 は拒食など中枢への作用を介さずに体重を減少させていると考えられた。さらに、生活習慣病の指標のひとつであるインスリン抵抗性を測定したところ、IL-31 投与群では有意に改善がみられた。

肥満を抑制する生理活性物質についての研究は進められている。例えば、脂肪細胞から分泌される代表的なアディポサイトカインである「レプチン」は、脳内の視床下部に作用して食欲を抑制する。レプチンは脂肪組織の量に比例して放出されるため、肥満しているほど血中の存在濃度が高まるが、肥満者では細胞内のシグナル伝達の乱れからレプチン抵抗性が生じ、皮肉にも効果が減じられてしまう。また、直接脂肪を減少させる効果のあるタンパク質として、血中の遊離脂肪酸に反応してマクロファージから放出される「AIM (apoptosis inhibitor of macrophage)」が知られている。AIM は、CD36 を介して脂肪細胞に取り込まれ、脂肪分解を引き起こすことで脂肪組織を減少させる効果がある。しかしながら、過剰な遊離脂肪酸が血中に放出されることにより、インスリン抵抗性が惹起されてしまう。これらの理由から、安全かつ健康的に肥満を解消する「夢のやせ薬」は未だ存在していない。

2. 研究の目的

IL-31 が脂肪分解を引き起こすにもかかわらず、産生された遊離脂肪酸がインスリン抵抗性を引き起こさないことから、脂肪酸が毒性を発揮する前に直ちに生体内で代謝されている事が考えられる。実際に、バセドウ病で甲状腺ホルモンが過多になった場合や、褐色細胞腫によりカテコールアミンが過剰に産生された場合に、代謝が活性化し体重が減少することが報告されている。IL-31 投与に関して、代謝を亢進させるホルモンとの関連を調べた結果、血中甲状腺ホルモン量には差がなかったものの、血中カテコールアミンの一種、ノルアドレナリン量は約 6 倍に増加していた。このような IL-31 と代謝調節ホルモンとの関連から、IL-31 は何らかのメカニズムを介してカテコールアミンの存在量を増加させ、白色脂肪組織での脂肪分解と褐色脂肪組織での熱産生を増加させることにより、体重減少とインスリン抵抗性の改善を引き起こしていることが予想された。

IL-31 に関する研究は、アレルギー・アトピー性皮膚炎との関連が注目を浴び、論文も多い。一方、代謝との関連については全く知られていない。本研究の特色は、独自に見出した IL-31 と体重減少の相関関係から出発し、その作用の中心となるカテコールアミン産生に焦点を絞り、IL-31 の作用機序を明らかにすることである。現在までの報告では、中枢に作用せずに脂肪分解を引き起こし、かつインスリン抵抗性を改善する生体分子は皆無と言ってよい。本研究の意義は、肥満の予防および治療につながる新規の知見を得ることにある。

3. 研究の方法

本研究では、IL-31 による脂肪溶解メカニズムについて、申請者らが独自に作製した IL-31Ra 抗体を用いて、まず IL-31 標的細胞の同定およびカテコールアミン産生細胞の同定を行い、解析の標的となる細胞に焦点を絞ったのちに、IL-31 標的細胞の培養および解析を行い、脂肪溶解に関する IL-31 の作用の分子機序を明らかにする。さらにカテコールアミン受容体阻害剤の効果の検討および IL-31Ra KO 骨髄キメラマウスの解析を通じて、細胞レベルで得られた知見を個体レベルの解析によって評価する。同時に、IL-31 とレプチンシグナルとの関連の解析を進め、IL-31 による脂肪溶解の生理的意義の解明を行うことで、肥満の予防および治療につながる知見を得る。

4. 研究成果

(1) IL-31 過剰発現は食事性肥満モデルマウスの体重を減じ、血中レプチンを減少させる

肥満モデルマウスに OSM を投与すると体重の減少と代謝異常の正常化が引き起こされることが既に報告されている。そこで、共通の OSMR からのシグナルを通じて IL-31 が代謝異常を改善する可能性について検討した。Hydrodynamic tail vein

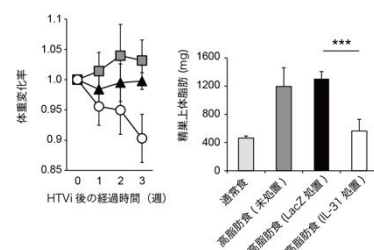


図1. IL-31 の抗肥満効果

injection (HTVi)法を用いて肥満モデルマウスで過剰発現したところ、IL-31 処理群において有意な体重減少が観察された。これと一致して、IL-31 処理群では内臓脂肪の指標となる精巢上体脂肪組織の重量が減少していた。これらの結果は IL-31 が代謝疾患に対して有用な効果を持つことを示唆する(図1)。OSM 投与の場合、食欲抑制という副作用が報告されているが、IL-31 処理において食欲抑制は見られなかった。そのため、IL-31 と OSM は異なるメカニズムで代謝調節に関与している可能性が考えられた。

(2) IL-31 過剰発現は食事性肥満モデルマウスの血中ノルアドレナリンを増加させる

褐色細胞腫、もしくは甲状腺機能亢進症は、体重減少を引き起こす主要な疾患である。そこで、IL-31 処理マウスの血中ノルアドレナリン、および血中甲状腺ホルモンを測定し、これらの疾患に関連する状態にあるかどうかを検討した。その結果、甲状腺ホルモン濃度に関してはコントロール群と IL-31 処理群の間で差が見られなかったものの、ノルアドレナリン濃度に関しては IL-31 処理群で有意な上昇が見られた(図2)。

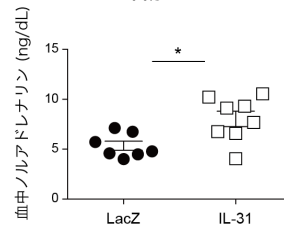


図2. IL-31 による血中ノルアドレナリン上昇

(3) IL-31 過剰発現は OSMR ノックアウトマウスに作用しない

IL-31 は、IL-31RA と OSMR が複合した受容体を通じてシグナルを伝達することが報告されている。代謝調節に関して、IL-31 が既知の受容体を経由して作用しているかどうかを調べるために、食事性に肥満を誘導した OSMR 欠損マウスに IL-31 を HTVi 法にて過剰発現させた。予想と一致して、OSMR ノックアウトマウスに対しては、IL-31 処理は体重減少を引き起こさず、血中ノルアドレナリン上昇も引き起こさなかった。

(4) IL-31 は褐色脂肪組織の白色化を軽減する

IL-31 処理に反応して体重減少を引き起こす責任組織を決定するため、白色脂肪組織 (White adipose tissue; WAT) のベージュ化、および褐色脂肪組織 (brown adipose tissue; BAT) の変化について検討した。HTVi 後 7 日において、それぞれの組織を H&E 染色にて検討した結果、BAT の細胞密度は IL-31 処理によって高まっていたが、ベージュ細胞化しやすい鼠径部 WAT (inguinal WAT; iWAT) に関してはほとんど差が見られなかった(図3)。H&E 染色の結果とよく一致して、IL-31 を HTVi して 7 日後に BAT の cDNA を検討した結果、白色化を示す遺伝子群の発現が低下していた。これらの結果から、IL-31 によって増加した血中ノルアドレナリンが肥満マウスの BAT 白色化を改善したと考えられた。

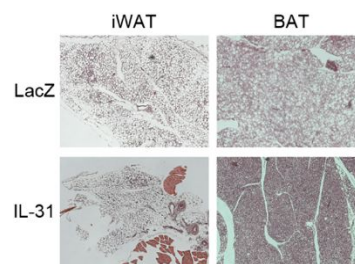


図3. IL-31 による BAT 密度の増加

(5) IL-31 は直接副腎に作用してノルアドレナリンを放出させる

ノルアドレナリンは、体内では交感神経、もしくは副腎から放出される。IL-31 受容体の IL-31Ra は TRPV1 感覚神経に発現していることが知られているため、感覚神経が受容した IL-31 シグナルが交感神経に伝達されてノルアドレナリンが放出される機構が考えられた。この仮説を検証するため、褐色脂肪に注射する神経の外科的な除去を行った。意外なことに、BAT 神経除去マウスにおいても、IL-31 による体重減少はキャンセルされなかった。そこで、神経以外の放出器官である副腎について検討を行った。マウスから副腎を摘出し、IL31 を添加した培地で培養したところ、添加後 30 分で培地中のノルアドレナリン量が有意に上昇した(図4)。これらの結果から、IL-31 は副腎に直接作用してノルアドレナリンを放出させ、BAT の遺伝子発現パターン変化を誘導することが示唆された。

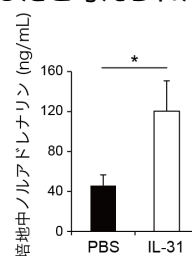


図4. 副腎培養に対する IL-31 の作用

(6) 組み換え IL-31 はインスリン抵抗性と耐糖能異常を改善する

マウス体内で IL-31 の発現を誘導すると、体重減少と脂質代謝の改善が起きる。そのため、IL-31 は肥満治療に応用可能であると考えられた。HTVi 法をヒトに応用するのは困難なため、組み換えタンパク質投与による IL-31 処理を試みた。その結果、HTVi 法と同様に、IL-31 投与によって食欲抑制の副作用なしに体重の減少が引き起こされた。さらに、GTT, ITT の改善も観察された(図5)。

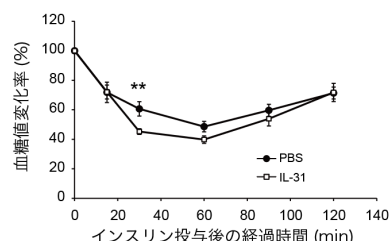
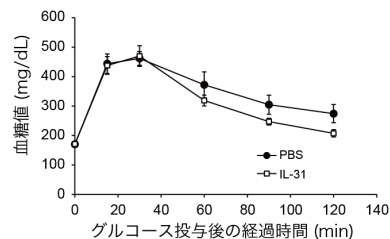


図5. IL-31 によるインスリン抵抗性、耐糖能異常の改善

IL-31 はアトピー性皮膚炎との関連が発見されて以降、

アレルギーに関する報告が多い。しかし、代謝調節に関する機能は全くと言って良いほど知られていない。今回の研究で、我々は IL-31 と体重減少との関係を見出し、さらに、IL-31 の抗肥満効果が、直接副腎に作用して血中ノルアドレナリンを上昇させ、BAT の遺伝子発現パターンを変化させる機構を通じて発揮されることを明らかにした。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名 :

職名 :

研究者番号 (8 桁) :

(2) 研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。