

令和元年5月19日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11835

研究課題名(和文) 歯周病を合併したインスリン抵抗性関連疾患における補体分子CfBの役割の解明

研究課題名(英文) Role of complement factor B on insulin resistance-related disease

研究代表者

岩下 未咲 (Iwashita, Misaki)

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号：80611326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：CfB遺伝子を導入した3T3-L1細胞では、脂肪細胞分化中期から後期に発現が上昇する Ppar、C/ebp の遺伝子発現が顕著に亢進した。分化誘導6-10日後には、脂肪酸合成や脂肪滴形成、脂質合成に関与する遺伝子の発現および脂肪滴面積が有意に増大した。脂肪細胞特異的にCfBを過剰発現させた(CfB Tg)マウスでは、野生型に比べ、脂肪組織重量の増大、インスリン抵抗性増悪を示した。さらに、CfB Tgマウス皮下脂肪組織における脂肪細胞の分化、脂肪合成・蓄積に関与する遺伝子の発現が亢進した。以上の結果から、CfBが脂肪細胞分化において重要な役割を担い脂肪滴形成、脂肪蓄積に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

補体調節因子の一つであるCfBが脂肪細胞の分化・成熟、脂肪蓄積を促進し肥満およびインスリン抵抗性の増悪に関与することを明らかにしたことにより、CfBの肥満およびインスリン抵抗性に対する治療標的としての新たな可能性を見出した。その研究成果は国際科学雑誌Biochemical and Biophysical Research Communicationsに掲載された。

研究成果の概要(英文)：Complement factor B (CfB) is one of the complement system-related molecules. In CfB-overexpressing 3T3-L1 cells, the expression of adipocyte differentiation/maturation-related genes encoding peroxisome proliferator-activated receptor (Ppar), adipocyte Protein 2 and perilipin was significantly enhanced. Adipocyte-specific CfB overexpressing (CfB Tg) mice showed increased body weight and impaired insulin sensitivity. Furthermore, in CfB Tg mice, we observed a marked increase in the expression of genes encoding Ppar, perilipin, sterol regulatory element-binding protein 1 c and Cd36 in the subcutaneous adipose tissue compared to wild type mice. Our findings indicate that CfB plays a crucial role in late-phase of adipocyte differentiation and subsequent lipid droplet formation.

研究分野：歯周病学

キーワード：脂肪細胞分化 CfB 脂肪蓄積

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

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、脂肪組織における慢性炎症およびインスリン抵抗性の惹起に関する因子の網羅的解析をもとに、グラム陰性菌由来内毒素 (LPS) 刺激下でマクロファージと共培養した脂肪細胞での補体調節因子 complement factor B (CfB) の遺伝子発現が著しく亢進することを見出した。さらに、マウスおよびヒト血清での検討結果をふまえると、CfB が脂肪組織での炎症応答に加えインスリン抵抗性や代謝に影響を及ぼす可能性が示唆された。補体は生体防御において重要な役割を担い、欠損により膠原病や血管疾患などを発症するが、補体系とインスリン抵抗性の関連については明らかではない。

2. 研究の目的

CfB が脂肪組織慢性炎症およびインスリン抵抗性発症に及ぼす影響を検証する。

3. 研究の方法

- (1) CfB 遺伝子を過剰発現させた 3T3-L1 細胞を用いて、脂肪細胞において CfB が増殖・分化、脂質代謝、炎症応答に及ぼす影響について検証する。
- (2) 脂肪細胞特異的に CfB を過剰発現させた CfB Tg マウスを用いて、インスリン感受性および耐糖能、炎症・免疫応答、糖脂質代謝およびエネルギー消費などの点から、脂肪組織 CfB が全身および局所に及ぼす影響を検証する。

4. 研究成果

- (1) CfB 遺伝子を過剰発現させた 3T3-L1 前駆脂肪細胞に分化誘導を行うと、late phase of adipogenic genes である proliferator-activated receptor γ (*Ppar γ*)、*C/ebp α* の発現が顕著に亢進した。分化誘導 10 日後には、脂肪酸合成や脂肪滴形成、脂肪合成に関与する *Acc*、*Cd36*、*Perilipin*、*Srebp1c* 等の遺伝子発現がコントロールに比べ有意に亢進した (図 1)。

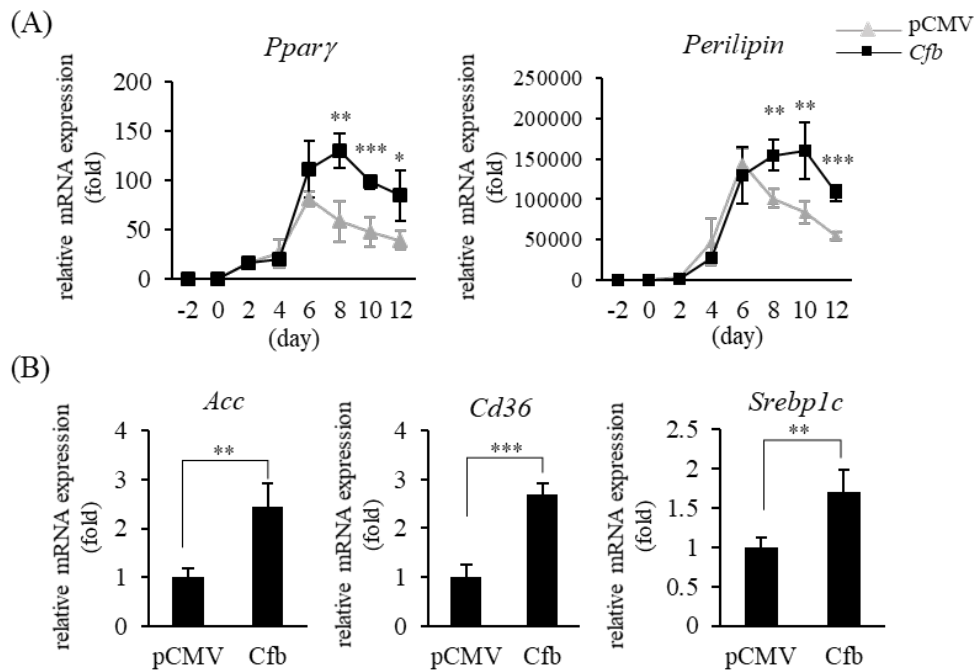


図1 (A) 3T3-L1脂肪細胞分化誘導過程における遺伝子発現

(B) 3T3-L1脂肪細胞分化誘導10日後における遺伝子発現 *** $p < 0.001$ ** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

また、Oil red O 染色により、CfB を過剰発現させた細胞では脂肪蓄積の増大が観察された (図 2)。

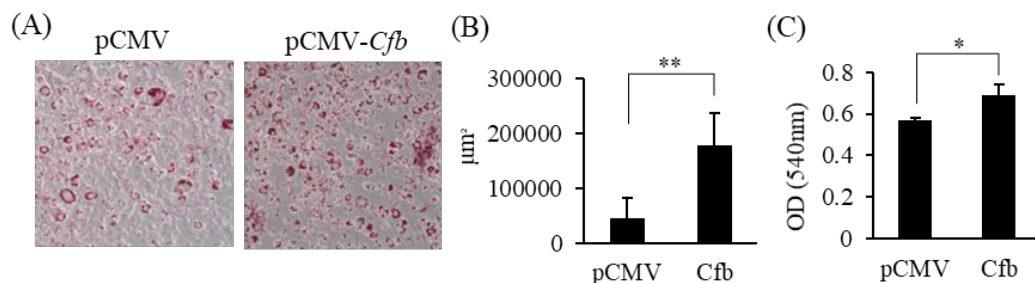


図2 (A) Oil red O染色像 (B) 脂肪滴面積 (C) 吸光度

** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

分化誘導開始後 4 日目に CfB 遺伝子を導入した場合、わずかに発現が亢進した遺伝子があったものの、脂質代謝に関連する遺伝子群を含めていずれの遺伝子においても著明な発現レベルの変化はなかった。

以上の結果から、CfB は脂肪細胞分化の中期から後期において亢進する Ppar γ 、C/ebp α 等の遺伝子発現に影響を及ぼし、脂肪細胞分化のサイクルおよび脂質代謝に影響している可能性が示唆された。

(2) 脂肪細胞特異的に CfB を過剰発現させた (CfB Tg) マウスでは、野生型マウス (WT) と比較して体重および、皮下・内臓脂肪組織重量、脂肪細胞面積の有意な増大を示し (図 3)、また、耐糖能の低下傾向、インスリン抵抗性の増悪がみられた (図 4)。

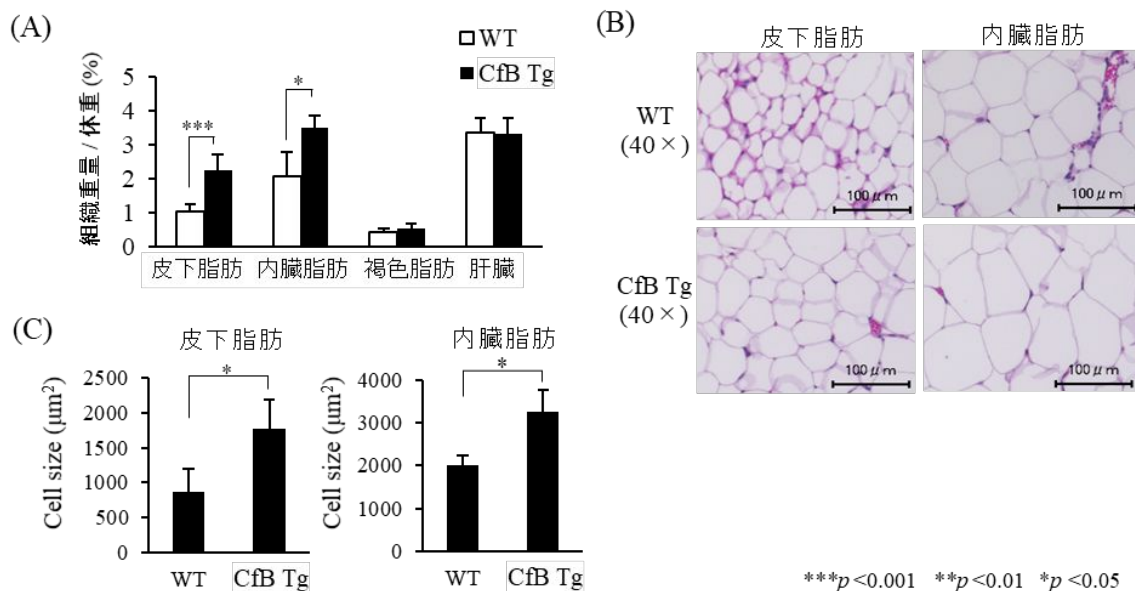


図3 (A) 体重当たりの組織重量 (B) 脂肪組織のHE染色像 (C) 脂肪細胞面積

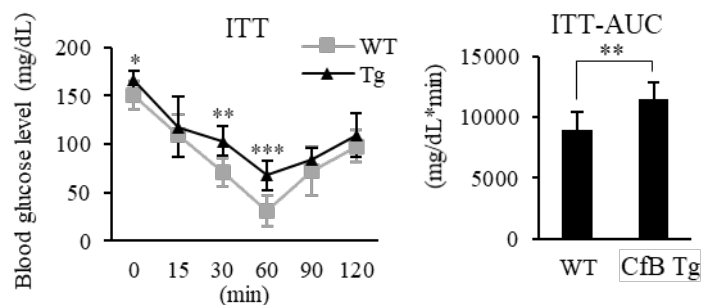


図4 インスリン負荷試験 ***p < 0.001 **p < 0.01 *p < 0.05

さらに、CfB Tg マウスでは野生型マウスに比べ、特に皮下脂肪組織において脂肪細胞分化成熟、脂肪滴形成・脂肪合成・脂肪蓄積に関連する遺伝子発現が増大した (図 5)。一方、Acox1、Ppara などの β 酸化関連遺伝子の遺伝子発現は減弱した。

また、CfB Tg マウス脂肪組織では、補体活性化経路の中心的役割を担う C3 の遺伝子発現の亢進、補体系の抑制に働く Cfh の遺伝子発現の抑制がみられ CfB の過剰発現により補体系に影響を及ぼしていることが示唆された。

CfB Tg マウス脂肪組織中の F4/80 陽性細胞は野生型マウスと同程度であり有意な増大はなかった。

通常食より脂肪含有量の高い Western diet を負荷した野生型マウスおよび、CfB Tg マウスを用いて検討したところ、糖負荷試験では両マウスに有意差はなかったが、インスリン負荷試験では、野生型に比べ CfB Tg マウスではインスリン応答の低下がみられた。これは、Western diet 誘導性の肥満によって引き起こされるインスリン抵抗性に CfB 過剰発現による影響が加わった結果と考えられる。

エネルギー消費における影響を調べるため、20 週齢の野生型および CfB Tg マウスの冷刺激時の直腸温を測定したところ、両マウス間で有意な差はなかった。また、各マウスの肩甲骨間褐色脂肪組織の uncoupling protein (UCP1) 免疫染色像から、CfB 過剰発現による UCP1 発現に明らかな変化はないことが示された。UCP1 および、主に褐色脂肪組織においてエネルギー産生の制御に関わる PPAR- γ co-activator-1 α (PGC1- α) の遺伝子発現レベルは野生型、

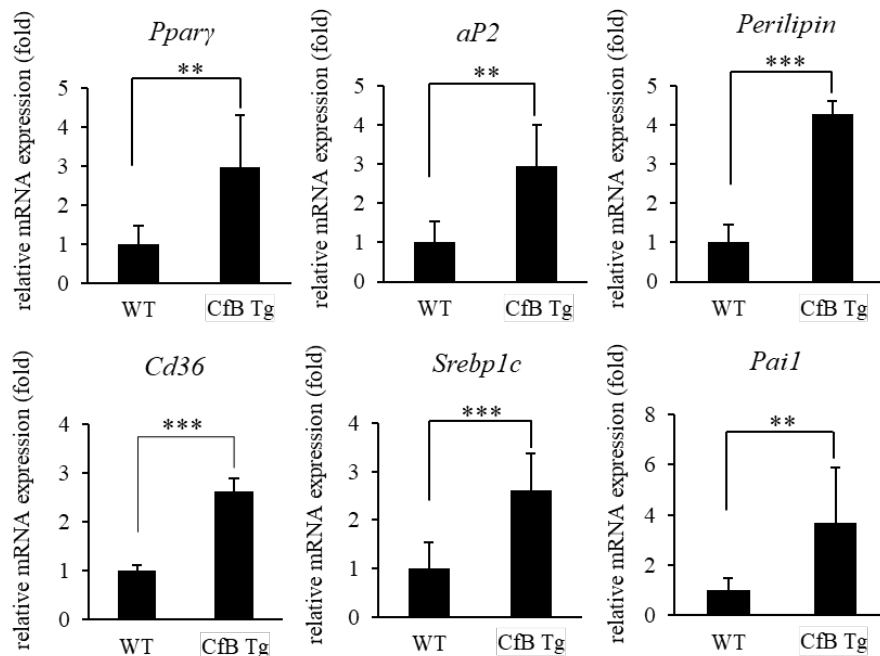


図5 皮下脂肪組織における遺伝子発現 *** $p < 0.001$ ** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

CfB Tg の間で有意差はなかった。

これまでの結果から、CfB Tg マウスでの有意な体重増加の亢進や脂肪組織における脂質代謝関連遺伝子の発現変動は、脂肪細胞自体の変化によるところが大きいといえる。

本研究により、CfB は PPAR γ の発現を増大し、PPAR γ による制御を受けている SREBP1c、ACC、CD36 などの発現を亢進させ、脂肪細胞の成熟・脂肪の蓄積に影響を及ぼすことが示された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Matsunaga H, Iwashita M, Shinjo T, Yamashita A, Tsuruta M, Nagasaka S, Taniguchi A, Fukushima M, Watanabe N, Nishimura F: Adipose tissue complement factor B promotes adipocyte maturation. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 495: 740-748.

〔学会発表〕(計 4 件)

脂肪組織 Complement factor B が炎症および代謝制御に及ぼす影響
松永紘明、山下明子、岩下未咲、新城尊徳、鶴田満大、西村英紀 第 59 回日本歯周病学会春季学術大会、かごしま県民交流センター、鹿児島市、2016 年 5 月 20-21 日

脂肪組織 Complement factor B が炎症および代謝制御に及ぼす影響
松永紘明、岩下未咲、山下明子、新城尊徳、鶴田満大、西村英紀 第 60 回日本歯周病学会春季学術大会、福岡国際会議場、福岡市、2017 年 5 月 12-13 日

脂肪組織 Complement factor B は脂肪細胞の成熟および肥満を促進する
松永紘明、岩下未咲、山下明子、新城尊徳、鶴田満大、西村英紀 日本歯周病学会九州五大学・日本臨床歯周病学会九州支部 2017 年度合同研修会、アクロス福岡、福岡市、2017 年 11 月 19 日

Complement factor B は脂肪細胞の成熟および肥満を促進する
松永紘明、岩下未咲、山下明子、新城尊徳、鶴田満大、西村英紀 第 61 回春季日本歯周病学会学術大会、京王プラザホテル、新宿区、2018 年 6 月 1-2 日

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：山下明子

ローマ字氏名：(YAMASHITA, akiko)

所属研究機関名：九州大学

部局名：歯学研究院

職名：助教

研究者番号（8桁）：70511319

研究分担者氏名：西村英紀

ローマ字氏名：(NISHIMURA, fusanori)

所属研究機関名：九州大学

部局名：歯学研究院

職名：教授

研究者番号（8桁）：80208222

研究分担者氏名：浅野知一郎

ローマ字氏名：(ASANO, tomoichiro)

所属研究機関名：広島大学

部局名：医歯薬保険学研究院（医）

職名：教授

研究者番号（8桁）：70242063

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。