

令和元年6月18日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16141

研究課題名(和文) マクロファージのAktによる環境-免疫-代謝関連の解明と新規糖尿病治療の開発

研究課題名(英文) Immune response to postprandial factors through activation of Akt in macrophages

研究代表者

戸田 郷太郎 (Toda, Gotaro)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：30780332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：私たちはLPSの食後の血中濃度上昇が果たす役割を明らかにしたいと考えた。LPSが誘導するサイトカインの中では、食後にIL-10の門脈内濃度が上昇しており、肝臓でIL-10が膵臓由来のインスリンと共に摂食による糖新生遺伝子を抑制していることが分かった。また骨髄系細胞でのLPSシグナル、インスリン受容体-Akt-mTORシグナルが食後の糖新生遺伝子発現の抑制、マクロファージでのIL-10誘導に必須であった。今回の検討結果から食後に増強する腸内細菌由来のLPS、膵臓由来のインスリンがマクロファージでIL-10を誘導し、インスリンと協働して肝臓で食後糖代謝恒常性を維持すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫細胞が肥満状態で炎症を引き起こすことにより肥満を増悪させることは数多く報告されてきたが、本研究では正常な状態で免疫が食後の代謝を調節するプロセスを明らかにした。肥満の形成ではこの正常な機能が破綻することにより組織マクロファージでのIL-10欠乏が生じると考えられる。今後の検討によりその過程の詳細が明らかになれば、肥満・インスリン抵抗性に対する新たな治療ターゲットとなることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Lipopolysaccharide (LPS), which has been reported to drive the pathogenesis of obesity, is also elevated in normal lean mice after feeding, raising the possibility of its role in maintaining postprandial glycemia. Among factors induced in macrophages by LPS, interleukin-10 (IL-10) was elevated in the portal vein after feeding. In vivo the IL-10 signal in liver was shown to suppress postprandial gluconeogenic gene expression. Interestingly, both insulin and LPS stimulation were required for the rapid induction of IL-10 in macrophages. Indeed, myeloid LPS and insulin/Akt/mTOR signaling were shown to be required for the induction of IL-10 in macrophages and the postprandial suppression of gluconeogenic genes in liver. In obese mice, replenishment of IL-10 by adenoviral gene transfer attenuated both postprandial glycemia and hyperinsulinemia. Our results suggested a therapeutic potential of postprandial Akt-mTOR mediated IL-10 production by macrophages in obesity.

研究分野：糖尿病・代謝

キーワード：食後糖代謝 免疫 サイトカイン 肝糖新生

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病は体内でインスリン作用が不足することにより生じ、その中でも血糖の恒常性を維持する末梢臓器におけるインスリン抵抗性は、過食など食習慣により肥満が生じ増悪することが知られている。肥満・インスリン抵抗性が生じる過程に脂肪組織などにおける炎症状態が関与することは、私たちを含む多くの研究グループが提唱してきた (Kamei et al. JBC 2006, Nishimura et al. Nat Med 2009, Kobayashi et al. PNAS 2011)。免疫機能は生体防御を司ることからも外界と体内の関係を規定する重要な機能であると考えられるが、代謝の制御にも多面的な影響を及ぼすと考えられる。糖尿病患者において免疫反応は時に血糖を大幅に変動させ、特に感染症を発症した状態で糖尿病が増悪し高血糖となることが広く知られている。しかし感染症の一部で血糖が低下することも私たちを含む研究者により報告されており (Toda et al. J Med Case Rep. 2014)、免疫反応が血糖を低下させる場合もあると考えられる。近年抗炎症性の M2 マクロファージが白色脂肪の browning を促進しエネルギー代謝を亢進させることも報告されており、炎症と代謝の関係が肥満、抗肥満双方の効果を持ちうると考えられる。また肥満状態においては腸内細菌叢が変化し、その変化が肥満インスリン抵抗性の形成に重要であることも示唆されており、腸内細菌叢が食事を摂取する過程などで外界に直ちに接触しうることからも注目される。腸内細菌叢の変化、免疫機能の調節異常は肥満・インスリン抵抗性を形成する因子と考えられるが、これまで免疫が食事を含む外界の影響をどのような機構で受容し、その機構に治療的な介入が可能であるかどうかという点については十分に検討されてこなかった。私たちは多くの組織で多面的な作用をもち、インスリンにより活性化されるリン酸化酵素である Akt がマクロファージで果たす役割に着目した。高脂肪食により肥満させたマウスの脂肪組織由来マクロファージをインスリンで刺激すると、非肥満対照と比較し Akt リン酸化反応が減弱したことから (図 1)、マクロファージにおける Akt リン酸化反応が代謝でどのような役割を果たすかについて検討することにより、免疫機能が外界のいかなる要因に反応し、いかなる経路を通して代謝を制御するかについて検討したいと考えた。

2. 研究の目的

私たちは免疫機能がいかに環境中の要因に刺激され、その多様な作用によって全身の代謝を調節するかという点に焦点を当て、過去の検討からマクロファージの Akt が通常の状態ではマウスの体重、糖代謝を肥満にならないように制御し、食後に糖新生促進遺伝子の過剰な発現を抑制すると考えられたことから、生体が外界に暴露される生理的な過程であると考えられる摂食反応を検討することとした。本研究ではマクロファージが摂食において応答する外界の因子、代謝を調節する因子の同定を目指し、環境-免疫-代謝の関係から、肥満・糖尿病治療の新たなターゲットを模索した。

3. 研究の方法

免疫機能が外界にどのように反応し代謝を調節するかを明らかにし、肥満の治療でターゲットとなり得るプロセスを探索するために、遺伝子改変マウス、細胞モデルを活用し、遺伝子発現解析、サイトメトリーなどの解析手法を用いた。

4. 研究成果

腸内細菌由来の成分が、正常な代謝恒常性を維持するかは明らかでない。私たちは摂食によって腸内細菌叢が大きく変化し、それにともなって腸内細菌に多量に含まれる Lipopolysaccharide (LPS) の食後の血中濃度が増加することを見だし、この摂食による変化の役割を明らかにしたいと考えた。LPS が免疫細胞で誘導するサイトカインは炎症を惹起することによりインスリン抵抗性を増強すると報告されているものが多いが、通常食を摂取したマウスでは、食後に interleukin (IL)-10 の門脈内濃度が上昇しており、この IL-10 が肝臓での糖代謝に何らかの作用を持つことが考えられた。初代培養肝細胞においては、生理的濃度のインスリン単独では肝糖新生遺伝子が抑制されないが、IL-10 との共刺激では抑制された。また IL-10 受容体の signaling subunit の IL-10rb に対する shRNA をコードしたアデノウイルスをマウスに感染させると、再摂食による糖新生遺伝子発現の抑制が障害された。また再摂食した野生型マウスの肝臓では Stat3 がリン酸化され、IL-10 受容体の knockdown により Stat3 のリン酸化状態は低下したため、IL-10 受容体-Stat3 シグナルが肝臓での食後糖代謝調節に重要と考えられた。IL-10 はマクロファージで LPS とインスリンの共刺激により短時間で強力に誘導され、この反応は TLR-4 の機能が低下した C3H/HeJ マウスやインスリン受容体をノックアウトしたマクロファージで低下していた。さらに、C3H/HeJ マウスから骨髄移植後のマウスや骨髄特異的インスリン受容体ノックアウトマウスでは随時血糖が高値となり食後の糖新生遺伝子発現抑制が障害されたことから、骨髄系細胞への LPS とインスリンのシグナルが食後血糖調節に重要と考えられた。マクロファージでの IL-10 発現は PI3K 阻害薬の存在下で低下したことから、PI3K-Akt 経路の代謝調節での役割を検討するため、骨髄系細胞特異的 Akt1/Akt2 欠損マウスを用いた。このマウスのマクロファージではインスリン、LPS による IL-10 発現は減弱し、食後の糖新生遺伝子発現抑制が障害された。Akt により抑制され mTORC1 を抑制する TSC2 が Akt1/Akt2 と同時に骨髄系細胞特異的に欠損したマウスでは mTORC1 が活性化され、コントロールと同等の摂食反応が見られたことから、マクロファージの Akt-mTORC1 シグナルが食後血糖調

節に重要と考えられた。高脂肪食を摂取し肥満したマウスでは内臓脂肪組織マクロファージの IL-10 発現が低下しており、食後の糖新生遺伝子発現が抑制されなかったが、アデノウイルスを用いて IL-10 を強制発現すると食後血糖は低下し肝糖新生遺伝子発現は抑制された。これらの結果から、マクロファージが食後腸管由来の LPS とインスリンに反応し Akt-mTORC1 依存的に IL-10 を発現し、インスリンと協働して肝糖新生を抑制する経路が生理的な状態での食後糖代謝調節に重要と考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

1.Gotaro Toda, et al. Akt in macrophages regulates postprandial glycemia through production of Interleukin-10. Keystone Symposia, Drivers of Type 2 Diabetes: From Genes to Environment. (2018)

2.Gotaro Toda, et al. Macrophages React to Postprandial Signals and Regulate the Response to Feeding through Akt-mTOR-Dependent Production of IL-10. 78th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (2018)

3.戸田 郷太郎、他「マクロファージは摂食時の腸内細菌由来 LPS シグナルに反応し Akt-mTOR を介した IL-10 発現により肝糖新生を抑制する。」第 5 回肝臓と糖尿病・代謝研究会, 2018 年

4.Gotaro Toda, et al. Akt in Macrophages Regulate the Response to Feeding. 77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (2017)

5.戸田 郷太郎、他「骨髄系細胞における Akt を介した代謝恒常性維持機構の検討」第 59 回日本糖尿病学会 (2016 年)

6.戸田 郷太郎、他「マクロファージは Akt を介し腸内細菌叢に反応し代謝恒常性を維持する。」第 30 回日本糖尿病肥満動物学会 (2016 年)

〔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: なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

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。