

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06958

研究課題名(和文)高脂肪食摂取による肥満と脳の炎症～マクロファージに着目して～

研究課題名(英文)Obesity and Brain Inflammation due to High Fat Dietary Intake

研究代表者

竹村 晶子 (Takemura, Shoko)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教

研究者番号：70647049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：高脂肪食を与えたマウスでは骨髄由来の免疫系の細胞が摂食を調節する脳部位に集積していたことから、高脂肪食による摂食調節機構の異常にこの免疫系の細胞が関与している可能性がある。また、摂食調節部位に発現し高脂肪摂取による肥満にかかわる、tropomyosin receptor kinase Bの発現を調節する新規の因子としてsorting nexin 25を同定した。幼少期に隔離飼育し成体になったマウスでは、摂食に関わる脳部位でグリア(タニサイト)細胞の形態異常が認められ、ストレス負荷時に脳から血中へ分泌される因子の分泌量低下をひきおこしてい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

肥満に伴い内臓脂肪で炎症が生じているように、脳でも摂食にかかわる部位で炎症が生じていることがわかってきた。本研究では末梢由来の免疫細胞がその一端を担っていることが示唆された。また、摂食調節機構に関わる受容体の細胞内分解に関わる新しい因子を見出した。幼少期に隔離したマウスが成体になったときに摂食に関わる脳部位で細胞の形態異常が認められストレス負荷時の応答の異常に関わっていることが示唆された。摂食調節やストレス応答のメカニズムは不明な点が多いが以上のようにその一部を解明した。

研究成果の概要(英文)：Since bone marrow-derived immune cells accumulated in the brain regions that regulate food intake in mice fed a high-fat diet, it is possible that these immune cells are involved in the abnormalities in food intake regulation induced by a high-fat diet. We also identified sorting nexin 25 as a novel factor that regulates the expression of tropomyosin receptor kinase B, which is expressed at the site of food intake regulation. In adult mice that were kept in isolation as juveniles, morphological abnormalities of glial cells (tanycytes) were observed in the brain involved in food intake, suggesting that these cells induce a decrease in the secretion of factors that are secreted from the brain into the blood during stressful conditions.

研究分野：神経解剖学

キーワード：高脂肪食 細胞内輸送 幼少期隔離 HPA軸 タニサイト

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトではこれまで、肥満に伴い内臓脂肪にマクロファージが集積して炎症が起こり、血中にサイトカインが放出され結果としてメタボリックシンドロームを引き起こすことが知られてきた。高脂肪食を与えて肥満にしたマウスでは、脳の摂食調節に関連する視床下部弓状核において炎症性サイトカイン及びヒートショックタンパク発現レベルが上昇し、遺伝子操作により炎症を抑えると体重増加が抑制される。高脂肪食による脳の炎症は肥満の一因である可能性が高いが、なぜ脳で炎症が生じるか、また神経組織に実際にどういう損傷を与えているかは不明である。脳由来神経栄養因子(BDNF)の受容体である tropomyosin receptor kinase B(TrkB)は視床下部に発現し高脂肪食摂取による肥満に関与するが、TrkBの発現調節機構は不明な点が多い。ストレス応答において不可欠である視床下部-下垂体-副腎(HPA)軸では、糖質コルチコイドが、下垂体および脳への負のフィードバックを通じてHPA軸の活性を調節する。HPA軸においてコルチコトロピン放出因子を産生する室傍核や血中へ分泌する正中隆起はいずれも視床下部に存在し弓状核と近接する。

### 2. 研究の目的

高脂肪食摂取やストレスが神経組織構造に与える影響と、それにより生じる脳機能異常のメカニズムをあきらかにすることを本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

離乳時(生後21日目)の雄マウス(C57BL/6J)に全身の細胞が緑色蛍光を発するマウスの骨髄由来細胞を移植後隔離飼育し、高脂肪食または通常食を与えて摂餌量と体重を測定した後、免疫染色により骨髄由来細胞の分布を調べた。

HEK293T細胞に sorting nexin 25(SNX25)および TrkB を強制発現し共免疫沈降を行った。また、細胞表面タンパクをビオチン標識した後、培養上清に BDNF を添加してビオチン標識した TrkB の経時的な残量を調べた。

生後21日から35日まで社会的隔離を経験した成体マウス(幼少期隔離(JSI)群)と通常飼育のマウス(Control群)に強制水泳試験を行い、基礎状態と強制水泳試験後の血中コルチコステロン(CORT)及び副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、正中隆起のコルチコトロピン放出因子(CRF)量をELISAにより測定した。Real-time PCR, 免疫染色によりHPA反応関連因子のmRNA量を測定し、免疫染色により構造的な差異を比較した。室傍核の活動レベルは、c-Fos免疫染色により比較した。

### 4. 研究成果

#### 4-1 高脂肪食摂取マウスの視床下部に骨髄由来細胞の集積が認められる

全身の細胞が緑色蛍光を発するマウスから得た骨髄細胞を野生型マウスに移植することで骨髄由来細胞を可視化した後、通常食を与えたマウスと高脂肪食を与えたマウスを比較した。すると高脂肪食を与えたマウスの脳で骨髄由来細胞が末梢から侵入して集積することを認めた。この骨髄由来細胞はF4/80陽性のマクロファージで、高脂肪食摂取開始1週間後から徐々に細胞数が増加し、摂取開始4週間後には多数集積した。末梢由来マクロファージは摂食を司る弓状核の他に、末梢由来マクロファージはストレスに関わる室傍核や扁桃体にも集積した。

#### 4-2 Sorting nexin 25はTrkBの発現調節をする

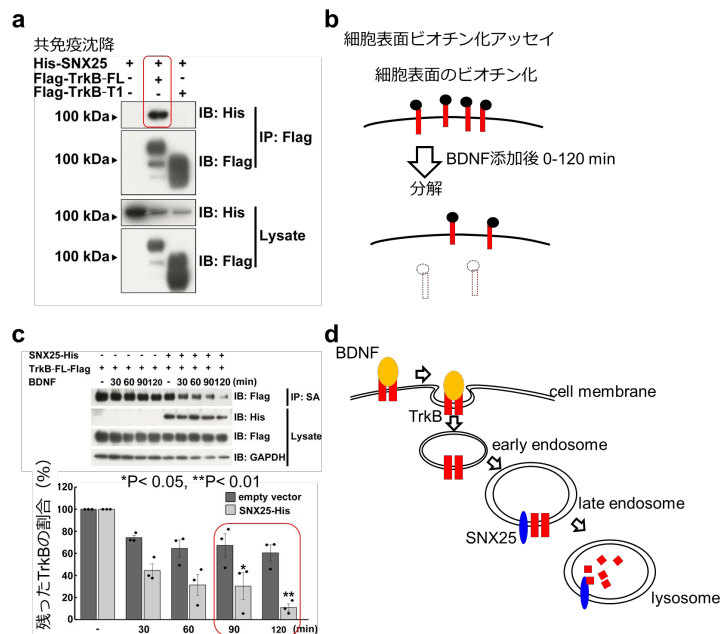


図1 SNX25は全長型TrkBの分解を促進した

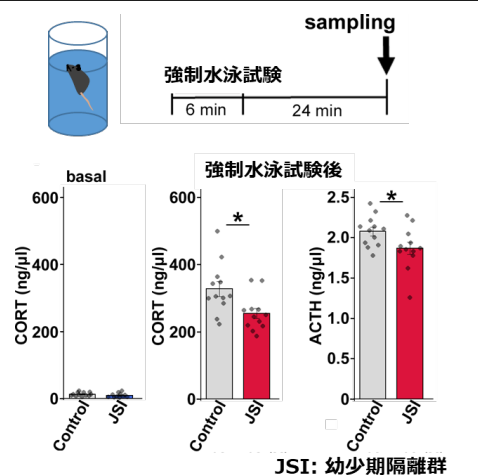


図2 幼少期隔離マウスは強制水泳試験後の血中CORT及びACTH濃度が低かった

肥満とストレスの両方に関するタンパクとして tropomyosin receptor kinase B (TrkB) の発現調節機構に着目し、脳の中でも特に弓状核及びその近傍の正中隆起で発現が高く、TrkB の発現を調節する新規の因子として、細胞内輸送を担う sorting nexin ファミリータンパクの一つ SNX25 を見出した。

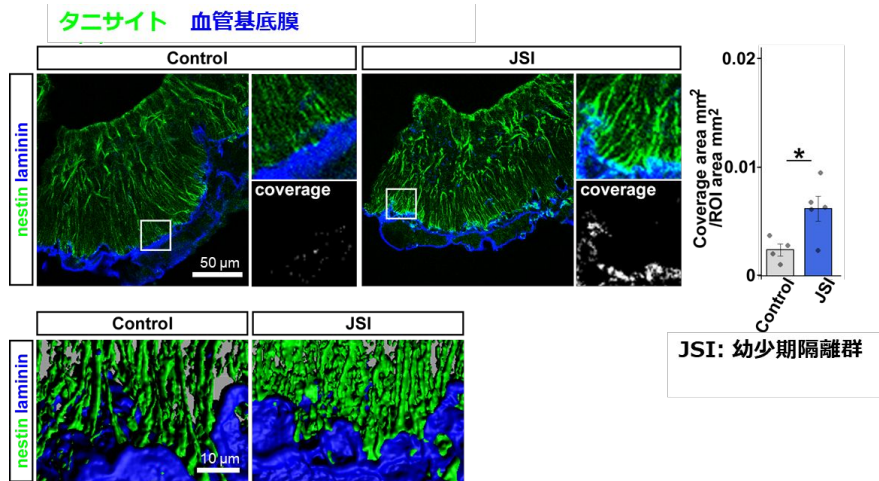


図3 幼少期隔離マウスの正中隆起ではタニサイトの血管被覆率が高かった

*In vitro* では、SNX25 は完全長の TrkB と相互作用することができるが、C-末端切断型アイソフォームとは相互作用しなかった (図 1a)。SNX25 を過剰発現させると、全長 TrkB の分解が促進された (図 1b,c)。これは SNX25 が TrkB のリソソームへの輸送を促進していることを示唆している (図 1d)。

#### 4 - 3 幼若期社会的隔離マウスではタニサイト-血管構築異常が認められる

4 - 1 で高脂肪食を与えて摂餌量を定量化するためにマウスを 1 ケージあたり 1 匹で隔離飼育した。すると、高脂肪食を与えていても隔離飼育すると体重増加が認められないことに気づいた。高脂肪食による体重増加が顕著な生後 21 日目から高脂肪食を与えていたが、生後 21 日目からという幼少期の隔離飼育が大きなストレスを与えているのではないかと考えた。幼少期隔離マウスは強制水泳試験によりストレスをかけた後の CORT 及び ACTH の血中濃度が対照群と比較して有意に低いことがわかった (図 2)。一方室傍核における神経細胞活性化マーカーである c-Fos 陽性細胞の数は基礎状態でも強制水泳試験後も 2 群のマウスに有意な差はなかった。また、室傍核における c-Fos, CRF, グルココルチコイド受容体, ミネラルコルチコイド受容体の mRNA 発現量は、基礎状態及び強制水泳試験後の両群で同程度であった。両群の室傍核において差が認められなかったため次に CRF ニューロンの終末が存在する視床下部正中隆起の解剖学的特徴を調べた。幼少期隔離群と対照群の正中隆起では CRF 陽性神経細胞末端、ラミニン陽性血管基底膜、CD31 陽性血管内皮細胞、PV-1 陽性有窓性血管内皮細胞の面積に有意差は認められなかった。しかし、ネスチン陽性タニサイトの面積は幼少期隔離群の正中隆起では対照群のそれと比較して有意に大きいことがわかった。ネスチン陽性領域は下垂体門脈が存在する正中隆起の底部で顕著に増大した。タニサイトの終足は視床下部ホルモンの分泌を制御することが知られている。幼少期隔離群の正中隆起では血管基底膜のタニサイト終足による被覆率が高いことがわかった (図 3)。

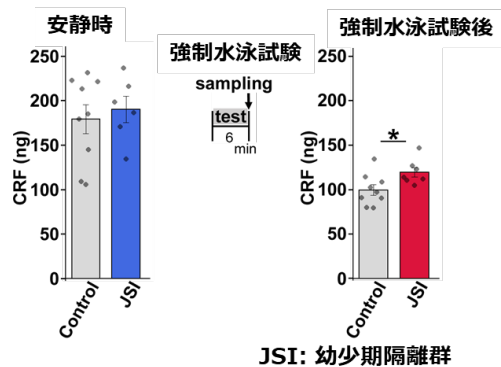


図4 幼少期隔離マウスの正中隆起では強制水泳後の CRF 残量が多かった

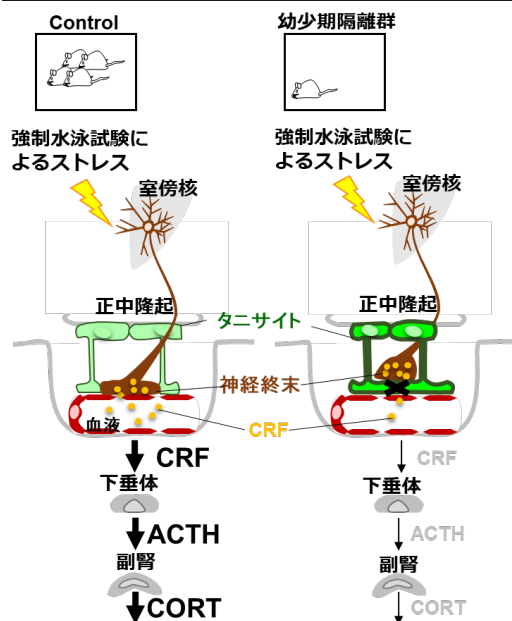


図5 幼少期隔離マウスの HPA axis 活性が低下していることの possible mechanism

また、基礎状態では正中隆起の CRF 含量に両群で差が認められなかったが、強制水泳試験後の幼少期隔離マウスの正中隆起では CRF 含量が有意に高かった (図 4) ことから、タニサイト終足が強制水泳試験後の CRF の血中への分泌を阻害し、そのため幼少期隔離群の正中隆起では CRF 含量が高いままであったことが示唆された。これらの研究成果 4 - 3 から示唆される幼少期隔離マウスの HPA 軸活性低下機構を図 5 に示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shoko Takemura, Ayami Isonishi, Tatsuhide Tanaka, Hiroaki Okuda, Kouko Tatsumi, Mariko Yamano, Akio Wanaka	4. 巻 225
2. 論文標題 Neural expression of sorting nexin 25 and its regulation of tyrosine receptor kinase B trafficking	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Structure and Function	6. 最初と最後の頁 2615-2642
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00429-020-02144-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹村晶子、石西綾美、田中達英、奥田洋明、辰巳晃子、和中明生
2. 発表標題 中枢神経系におけるSorting nexin 25の発現分布と脳由来神経栄養因子受容体の発現調節における役割
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹村 晶子、石西 綾美、田中 達英、辰巳 晃子、山野 眞利子、奥田 洋明、長野 護、南 陽一、重吉 康史、和中 明生
2. 発表標題 Sorting nexin 25は視交叉上核において日内変動し、TrkBチロシンキナーゼ受容体の分解に関わる
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹村 晶子、石西 綾美、田中 達英、辰巳 晃子、山野 眞利子、奥田 洋明、長野 護、南 陽一、重吉 康史、和中 明生
2. 発表標題 Sorting nexin 25の視交叉上核における日内発現変化とBDNF-TrkBシグナリング調節への関与
3. 学会等名 第63回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹村 晶子、石西 綾美、田中 達英、辰巳 晃子、和中 明生
2. 発表標題 「脳の窓」脳室周囲器官における分泌による血液-脳間の情報交換
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	石西 綾美  (Isonishi Ayami)  (10836018)	奈良県立医科大学・医学部・助教    (24601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------