

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17482

研究課題名(和文)肥満に伴う高インスリン血症における肝臓が及ぼす影響とその機序の探索

研究課題名(英文)The involvement of the liver in hyperinsulinemia associated with obesity

研究代表者

浅井 洋一郎 (Yoichiro, Asai)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50754925

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)：研究代表者らは野生型マウスに対し高脂肪食負荷を行うことで肥満・脂肪肝モデルマウスを作成し、肥満に伴う高インスリン血症における肝臓の役割を検討した。肥満に伴い肝臓のインスリンクリアランスが低下していることがわかった。肝臓におけるインスリン分解に関わる分子の遺伝子・蛋白発現が低下しており、肝臓のインスリンクリアランス低下の原因の一つである可能性が考えられた。また、脂肪肝に伴い、類洞内皮細胞の篩板孔が減少しており、この変化もまた、肝臓のインスリンクリアランス低下の要因の可能性が考えられた。脂肪肝における類洞内皮細胞では、炎症反応や細胞外基質に関わる遺伝子群の発現が上昇していることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究代表者らは、肥満・脂肪肝モデルマウスを用いて、全身の高インスリン血症における肝臓の役割を検討した。脂肪肝においては、インスリン分解に関わる分子の発現が低下していることがわかった。また、類洞内皮細胞の形態変化により、インスリンのクリアランスが低下している可能性が考えられた。これまで、肥満に伴う高インスリン血症は膵臓からのインスリン分泌亢進が主な要因と考えられてきたが、肝臓の役割も大きいことが示唆された。本研究により肥満の形成メカニズムへの理解や、肥満を抑制するための治療戦略の開発につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：The involvement of the liver in hyperinsulinemia associated with obesity was investigated. High fat diet (HFD) feeding caused obesity and liver steatosis in wild type mice. Hepatic insulin clearance was decreased in obese mice. The expression levels of the molecules involved in insulin degradation were decreased in the livers of obese mice. Scanning electron microscopy revealed that fenestrations in liver sinusoidal endothelial cells (LSECs) were decreased in HFD-fed mice. These results may be involved in decreased hepatic insulin clearance and hyperinsulinemia in obese mice. RNA-seq analyses of LSECs revealed gene expressions of inflammatory response and extra-cellular matrix were up-regulated in HFD-fed mice.

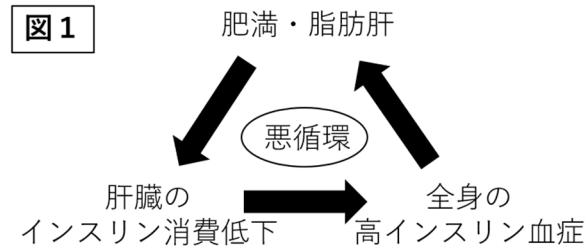
研究分野：糖尿病

キーワード：糖尿病 インスリン抵抗性 肥満 脂肪肝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活習慣の変化により肥満者の増加が著しい我が国において、肥満症の予防は社会の抱える最も重要な課題の一つであり、肥満の機序を解明することは極めて重要と考えられる。肥満の背景には高インスリン血症/インスリン抵抗性が存在しており、その原因として、膵細胞の増殖が報告されている。膵臓から分泌されたインスリンは門脈を経由し、肝臓内で40-80%分解されることが知られている(肝インスリンクリアランス)。肝臓での分解を免れたインスリンのみが全身を循環するため、血中インスリン濃度に与える肝臓の役割が大きいことが示唆される。また近年、肥満やそれに伴う脂肪肝では、肝臓におけるインスリンの取り込み・分解が低下することが報告されている。そのため、肥満においては高インスリン血症が助長され、高インスリン血症はそれ自体が肥満を誘導する因子であり、結果的に肥満が加速する悪循環が存在すると考えられる(図1)。しかしながら、脂肪肝における肝臓でのインスリン分解低下の機序はこれまでで十分明らかとなっていない。



2. 研究の目的

本研究では、過栄養に伴う脂肪肝の形成により、肝臓へのインスリン取り込み・分解が低下する機序を解明すべく研究を進めた。本研究を行うことにより、肝インスリンクリアランスの調節機構を明らかとし、肥満における高インスリン血症の悪化を抑制するための基盤となる知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

研究代表者は、野生型マウスに対し高脂肪食負荷を行い、肥満・脂肪肝モデルマウスの作成を行い、下記の実験を行うことで、高インスリン血症における肝臓の役割について検討を行った。

(1) 肝インスリンクリアランス

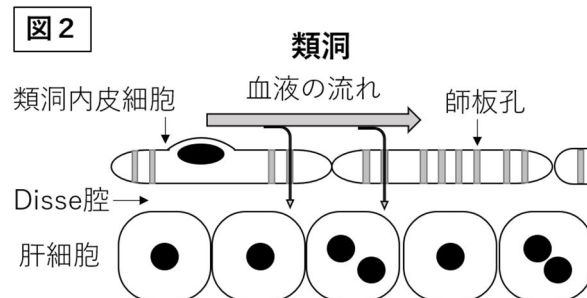
肝インスリンクリアランスを評価する方法として、ブドウ糖負荷試験時における末梢血インスリンとCペプチドのモル比を用いた。Cペプチドは膵臓から門脈へインスリンと等モル分泌され肝臓で分解されないため、末梢血でのインスリン/Cペプチドのモル比は、肝インスリンクリアランスの指標として広く用いられている。

(2) 肝インスリンクリアランスに関連する分子の解析

肝臓におけるインスリン分解の正確な機序は明らかとなっていないが、これまでインスリン分解酵素(IDE:Insulin degrading enzyme)、CEACAM1(carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1)の関与が報告されている。各群について、肝臓におけるこれらの分子の発現を評価した。

(3) 類洞内皮細胞篩板孔の評価

肝細胞は類洞を流れる血液から栄養されるが、その間には類洞内皮細胞とDisse腔が存在する(図2)。類洞内皮細胞には、細胞を貫通する直径50-250nmの穴(篩板孔:fenestration)が無数に開いており、類洞-肝細胞間の物質の移動を可能にしている。これまで、インスリンやコレステロールなどの代謝関連物質の移動に篩板孔が十分存在することが重要であることが報告されている。灌流固定したマウスの肝臓を採取し、走査型電子顕微鏡により類洞内皮細胞の篩板孔を観察した。篩板孔の直径、頻度を測定し、そこから計算される多孔性(porosity)を評価し、肝インスリンクリアランスとの関連を検討した。

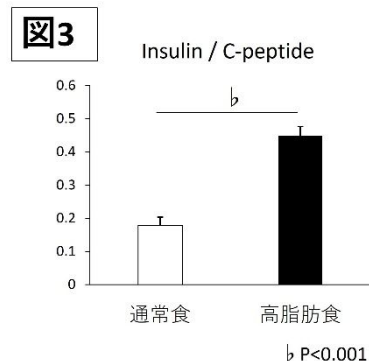


(4) 類洞内皮細胞の遺伝子発現の評価

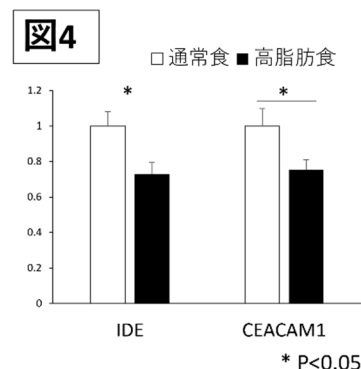
各群のマウスの門脈より灌流を行い、酵素的に肝臓内の細胞を分離した後、MACS(Magnetic-activated cell sorting)を行って類洞内皮細胞の単離を行った。単離した類洞内皮細胞よりRNAの抽出を行い、RNAseqを用いて網羅的な遺伝子解析を行った。

4. 研究成果

(1) 16週間における高脂肪食負荷により、体重増加と脂肪肝の形成を認めた。経口ブドウ糖負荷試験において、高脂肪食群では、高血糖に加えて著明な高インスリン血症を認めた。また、インスリン/Cペプチド(AUC)のモル比が有意に上昇しており、肝インスリンクリアランスが低下していることが示唆された(図3)。これまで、肥満に伴う高インスリン血症は膵臓からのインスリン分泌亢進が主な要因と考えられてきたが、肝臓の役割も大きいことが示唆された。



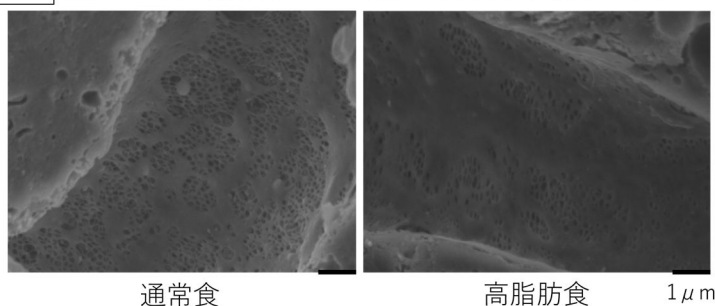
(2) 肝インスリンクリアランス低下の原因を検討するため、肝臓におけるインスリン分解に関わることが報告されているIDE、CEACAM1のタンパク発現を評価したところ、高脂肪食群の肝臓で有意に低下していることがわかった(図4)。高脂肪食群では肝臓におけるこれらの分子の発現低下により、肝インスリンクリアランスが低下していることが示唆された。



(3) 各群の肝臓について、走査型電子顕微鏡を用いて類洞内皮細胞の形態学的評価を行ったところ、高脂肪食群において篩板孔が有意に減少していることが観察された(図5)。解析の結果、高脂肪食群では篩板孔のporosityは約40%低下していることがわかった。篩板孔減少は、類洞内から肝細胞に到達するインスリン分子の減少をもたらし、肝インスリンクリアランス低下の一因となっている可能性が考えられた。

(4) 篩板孔の減少を認めた高脂肪食群の類洞内皮細胞においてどのような遺伝子発現変化が起こっているかを検討するため、MACSを用いて特異的に類洞内皮細胞を単離した。単離した類洞内皮細胞における遺伝子発現をRNAseqにより網羅的に解析したところ、高脂肪食群において炎症反応や細胞外基質に関わる遺伝子群が上昇していることがわかった。

図5 走査型電子顕微鏡による類洞内皮細胞篩板孔の観察



本研究により、肥満・脂肪肝に伴う高インスリン血症における、肝臓の役割が明らかとなった。また、肝インスリンクリアランスの低下には、肝臓におけるインスリン分解に関わる分子の発現低下や、篩板孔の減少が関与している可能性が考えられた。これらの知見は、肥満の形成メカニズムへの理解や、肥満を抑制するための治療戦略の開発につながることを期待される。

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〕

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------