

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 10日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591011

研究課題名（和文） T細胞分極化阻止因子GIFの脂肪組織リモデリング制御における分子機構の解明

研究課題名（英文） Elucidation of molecular mechanism of T cell differentiation inhibiting factor GIF on regulation of adipose tissue remodeling

研究代表者

西條 美佐（SAIJO MISA）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・特任助教

研究者番号：10566813

研究成果の概要（和文）：

Glycosylation Inhibiting Factor (GIF)は肥満脂肪組織に集積したCD4細胞からのインターロイキン4(IL-4)の分泌を阻止することによって、インスリン抵抗性の増悪と耐糖能低下に関与すると考えられた。即ち、GIFは適応性免疫によって肥満におけるインスリン抵抗性と耐糖能低下を制御していると考えられ、脂肪組織のリモデリングのバランスをコントロールするのに不可欠な因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Our data of this study suggest that Glycosylation Inhibiting Factor (GIF), secreted from CD4 T cells in obese adipose tissue, inhibits interleukin (IL-4) secretion from CD4 T cells in adipose tissue, resulting in worsening of both glucose tolerance and insulin sensitivity. This data concludes that GIF have a significant role in balancing and regulating adipose tissue remodeling.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：GIF, T細胞 Interleukin-4, 獲得免疫, 肥満, インスリン抵抗性, 耐糖能

1. 研究開始当初の背景

1) Glycosylation Inhibiting Factor (GIF)は免疫細胞ではおもにCD4T細胞から分泌され、naïve CD4T細胞がTh2CD4T細胞へ分化するのを阻止することをわれわれはすでに見いだしている。

2) 肥満した脂肪組織では脂肪細胞の増殖・分化・肥大化によるケモカイン産生→マクロファージ浸潤→脂肪細胞とマクロファージの相互作用により誘導される炎症性変化と経時的変化によりメタボリックシンドロームが進展すると考えられ、ダイナミックな変化(組織リモデリング)をきたすことが知られている。

3) 肥満脂肪組織において、B細胞やT細胞の浸潤やT細胞から分泌されるサイトカインが組織リモデリングやインスリン抵抗性に関与している可能性が報告されている。

4) Th2分化阻止因子であり、IL-4分泌を阻止するGIFが、肥満脂肪組織でのリモデリングに関与している可能性が考えられる。

5) 以上より、GIFと肥満脂肪組織でのリモデリングやインスリン抵抗性との関連を検討することで、肥満脂肪組織の炎症における獲得免疫の役割を検討し、その分子的機構の解明を試みるに至った。

2. 研究の目的

Glycosylation-inhibiting factor (GIF)はCD4細胞内で活性化・分泌され、CD4細胞がサイトカインIL-4を分泌するTh2細胞へ分化するのを阻止する。本研究は、肥満脂肪組織でのリンパ球の集積、肥満細胞の肥大化によるアデipoサイトカイン産生の破綻、炎症性マクロファージの浸潤、慢性炎症化などのダイナミックな変化(脂肪組織リモ

デリング)に焦点を当てて、GIFがリンパ球を介してどのように脂肪組織のリモデリングをコントロールするかを、

(1) GIFによる肥満脂肪組織における炎症性変化の統御の分子機構

(2) 肥満脂肪組織における炎症性変化によるインスリン抵抗性と糖代謝機能の増悪におけるGIFの統御

について解明する。

3. 研究の方法

GIFがどのようにT細胞を介して、あるいは直接、脂肪細胞に作用して、肥満脂肪細胞の炎症、サイトカイン産生機構の破綻、リモデリングを統御、調節しているかを以下の手順で解明する。

1) 野生型マウスとGIFノックアウトマウスに高脂肪食による肥満を誘発し、表現型を検討する。

①空腹時血糖の測定、糖負荷試験(Oral glucose tolerance test: OGTT)を行い、耐糖能を検討する。

②インスリン負荷試験(Insulin tolerance test: ITT)を行い、インスリン抵抗性を検討する。

2) 高脂肪食を負荷し肥満を惹起した野生型マウスとGIFノックアウトマウスの脂肪組織を用いた検討

①皮下脂肪組織における脂肪細胞とマクロファージを染色して形態や数を検討する。

②炎症関連遺伝子の発現を検討する。

③脂肪組織からstromal vascular cell fraction (SVF)を単離し、SVF中のCD4T細胞、マクロファージの形状、割合を検討する。

④SVFを用いてIntracellular Cytokine

Staining (ICCS) を行い、脂肪組織に浸潤している CD4T 細胞から分泌されるサイトカインの検討を行う。

3) 高脂肪食負荷した野生型マウスと GIF ノックアウトマウスに GIF^{+/+}あるいは GIF^{-/-}の CD4 T細胞を静脈投与し、耐糖能、インスリン抵抗性の変化を検討する。

4. 研究成果

1) 高脂肪食負荷による表現型の検討 (図 1, 2)

①② OGTT, ITT による耐糖能、インスリン抵抗性に関する検討

高脂肪食を負荷した GIF ノックアウトマウスは野生型マウスに比較して体重、食餌量に有意差はなかったが、空腹時血糖は有意に低く、OGTT, ITT において有意に耐糖能が維持され、インスリン抵抗性も軽度であった。

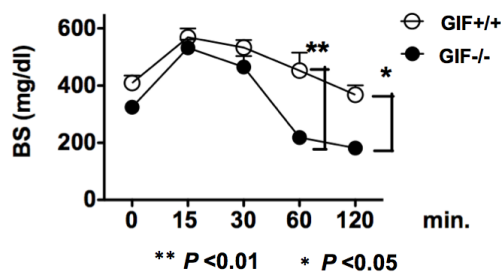


図1 高脂肪食負荷における糖負荷試験(GTT)

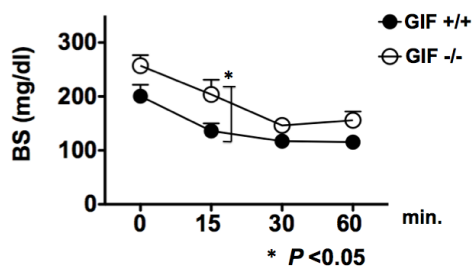


図2 高脂肪食負荷におけるインスリン負荷試験(ITT)

2) 皮下脂肪組織を用いた検討

① 脂肪組織の形態の検討

GIF ノックアウトマウスと野生型マウスでは脂肪組織の重量と大きさ、マクロファージの

数に有意差はなかった。

② 炎症関連遺伝子の発現の検討

Th2 関連遺伝子である IL-4, IL-13, GATA3 は GIF ノックアウトマウスで野生型マウスに較べて有意に高かった。一方、INF- γ 、T-bet など Th1 関連遺伝子は GIF ノックアウトでは、野生型マウスに比較して有意に低かった。

③ SVF における免疫細胞についての検討

GIF ノックアウトマウスでは SVF 全体の免疫細胞における CD4T 細胞の割合が野生型マウスに較べて有意に高かった。マクロファージの割合は GIF ノックアウトマウスと野生型マウスで有意差はなかった。常在性の非炎症性マクロファージ (M2) に対する炎症性マクロファージ (M1) 割合 (M1/M2) は GIF ノックアウトマウスに較べて野生型マウスで有意に高かった。

④ ICCS によるサイトカインの検討

GIF ノックアウトマウスでは野生型マウスに比較して XXX の分泌が有意に高かった。一方、INF- γ の分泌は低かった。

3) CD4 細胞トランスファーによる耐糖能とインスリン抵抗性の検討

高脂肪食により肥満を惹起した GIF ノックアウトマウスに野生型マウス由来の CD4T 細胞を静脈投与すると、空腹時血糖の上昇、GTT における耐糖能の悪化、ITT によるインスリン抵抗性の増悪が見られた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

(1) Tanaka M, Suganami T, Kim-Saijo M, Toda C, Tsuiji M, Ochi K, Kamei Y, Minokoshi Y, Ogawa Y. Role of central leptin signaling in the starvation-induced alteration of B-cell development. J Neurosci. 8; 31(23): 8373-80, 2011 (査読あり).

(2) Ichioka M, Suganami T, Tsuda N, Shirakawa I, Hirata Y, Satoh-Asahara N, Shimoda Y, Tanaka M, Kim-Saijo M, Miyamoto Y, Kamei Y, Sata M, Ogawa Y. Increased expression of macrophage-inducible C-type lectin in adipose tissue of obese mice and humans. Diabetes. 60:819-26, 2011 (査読あり).

(3) 西條 美佐, 菅波 孝祥, 小川 佳宏. 生活習慣病と癌の共通基盤病態としての慢性炎症. 内分泌・糖尿病・代謝内科, 科学評論社 35:195-201 2012 (査読なし)

(4) 西條 美佐, 菅波 孝祥, 小川 佳宏. 脂肪組織における自然炎症の形成機序. Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌(中外医学社) 98-105, 2011. (査読なし)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西條美佐 (SAIJO MISA) 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・特任助教

研究者番号：10566813

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

菅波 孝祥 (SUGANAMI TAKAYOSHI) 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：50343752