

## 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 24 年 4 月 22 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790854

研究課題名（和文） インスリン抵抗性の形成における CCR5 と CX3CR1 の役割の解明

研究課題名（英文） Role of CCR5 and CX3CR1 in the development of insulin resistance

研究代表者

太田 嗣人 (OTA TSUGUHITO)

金沢大学・フロンティアサイエンス機構・特任助教

研究者番号：60397213

研究成果の概要（和文）：肥満による炎症とインスリン抵抗性の誘導に MCP-1-CCR2 非依存性の未知のケモカインシグナルが関与している可能性がある。肥満モデルの脂肪組織では野生型マウス（WT）に比し、CCR5 とそのリガンドの発現が増加していた。高脂肪食を摂取した CCR5 欠損マウスは、耐糖能異常と肝脂肪蓄積に抵抗性を示した。肥満モデルの脂肪組織における CCR5+マクロファージ（ATM）細胞数は著明に増加していた。一方、肥満の CCR5 欠損マウスは WT に比し ATM の総数は減少し、M1 から M2 優位へと ATM 表現型の転換を認めた。肥満により脂肪組織では CCR5+ATM の浸潤・集積が増加する。また、CCR5 欠損によるインスリン抵抗性の減弱に ATM の量の低下のみならず質的变化、つまり M1 から M2 へとダイナミックな ATM の表現型シフトが寄与しうる。

研究成果の概要（英文）：Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and its receptor CCR2 are pivotal for adipose tissue macrophage (ATM) recruitment and the development of insulin resistance. However, other chemokine systems may also play a role in these processes. In this study, we investigated the role of CCR5 in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance. We analyzed expression levels of CCR5 and its ligands in white adipose tissue (WAT) of genetically (ob/ob) and high-fat (HF) diet-induced obese (DIO) mice. CCR5 and its ligands were markedly upregulated in WAT of DIO and ob/ob mice. Fluorescence-activated cell sorter analysis also revealed that DIO mice had a robust increase in CCR5+ cells within ATMs compared with chow-fed mice. Furthermore, Ccr5<sup>-/-</sup> mice were protected from insulin resistance, glucose intolerance, and hepatic steatosis induced by HF feeding. The effects of loss of CCR5 were related to both reduction of total ATM content and an M2 dominant shift in ATM polarization. Thus, CCR5 plays a critical role in ATM recruitment and polarization and subsequent development of insulin resistance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：内分泌代謝

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：炎症、インスリン抵抗性、ケモカイン、脂肪組織、肥満、マクロファージ

## 1. 研究開始当初の背景

肥満の脂肪組織にマクロファージが浸潤することがマウスおよびヒトで明らかにされて以来(JCI112:1796, 2003)、「慢性的な低レベルの炎症」はインスリン抵抗性を基盤とする代謝疾患の発症に重要な病態として認識されている(Nature 454:455, 2008)。肥満脂肪組織へのマクロファージの浸潤にケモカイン MCP-1 とその受容体 CCR2 の中心的役割が示唆される(JCI116:115, 2006)。しかし、MCP-1 欠損マウスでは脂肪組織の炎症は亢進しインスリン抵抗性が増悪するという相反する報告(Diabetes 56:2242, 2007) 等から、脂肪組織へのマクロファージの浸潤には MCP-1-CCR2 経路非依存性の未知のケモカインシステムによるシグナルが関与している可能性がある。

最近、申請者は肥満モデルマウスの脂肪組織において MCP-1-CCR2 と同等以上に発現が増加するケモカインシステムとして新たに CCR5 系を同定した。一方、その反対に脂肪組織における発現が持続的に低下するケモカインとして CX3CR1 系を同定した。すなわち CCR5 および CX3CR1 は肥満による炎症を正または負にダイナミックに変化させ、インスリン感受性と糖脂質代謝を制御している可能性があり、本研究の着想に至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、過栄養や肥満に起因する炎症がどのように脂肪組織や肝臓における局所のインスリン感受性を制御し、全身のインスリン抵抗性や2型糖尿病を発症させるかを明らかにしたい。そこで、肥満による炎症の誘導と糖脂質代謝の恒常性破綻とをリンクする標的分子としてケモカインに焦点をあてる。本研究では、肥満の進展により脂肪組織

の CCR5 経路のシグナル増大と CX3CR1 経路のシグナル減弱により炎症が惹起され、全身のインスリン抵抗性が発症するという仮説の検証を行う。

ケモカインシステムを介した炎症制御によるインスリン感受性及び糖脂質代謝調節機構の解明に基づく肥満症や糖尿病の創薬に発展する研究基盤の確立を本研究の最終的な目的とする。

## 3. 研究の方法

肥満モデルマウスの脂肪組織において CCR5 系の発現が持続的に増加し、一方、CX3CR1 系の発現が低下していることを見出している。そこで、1) 高脂肪食投与 CCR5<sup>-/-</sup>マウス、2) CCR5<sup>-/-</sup>マウスと遺伝的肥満モデル ob/ob マウスを交配したダブルノックアウト(DKO)マウスを作成し、炎症とインスリン抵抗性の相関を中心に代謝表現型の解析を行う。一方、3) 高脂肪食投与 CX3CR1<sup>-/-</sup>マウス、4) CX3CR1<sup>-/-</sup>と ob/ob マウスの DKO マウスを作成しその表現型を解析し、肥満による炎症を負に制御しうる CX3CR1 のインスリン抵抗性の発症における意義を明らかにする。

## 4. 研究成果

申請者は CCR5<sup>-/-</sup>マウスは高脂肪食による耐糖能異常と脂肪肝の発症に抵抗性を示し、その機序として脂肪組織へのマクロファージの浸潤の減少が誘因となり、TNF- $\alpha$  の発現低下、MAP キナーゼ (JNK・p38MAPK) および NF- $\kappa$ B 等の炎症シグナルや小胞体ストレスの減弱を伴いインスリン抵抗性が改善していることを明らかにした(2010年第70回米国糖尿病学会 ADA 口演、第46回欧州糖尿病学会 EASD 口演)。さらに、フローサイトメトリーを用いた免疫学的解析から、CCR5 欠損によ

り脂肪組織に浸潤するマクロファージの量の低下のみならず、炎症惹起性の M1 マクロファージが減少し、炎症抑制性の M2 マクロファージの増加というマクロファージの表現型が M2 優位へとダイナミックにシフトすることがインスリン抵抗性の改善に寄与することを見出している (2011 年第 71 回 ADA 口演、2011 年第 47 回 EASD 口演)。

正常および肥満マウスの脂肪組織を脂肪細胞分画と間質血管系分画に分離すると、CCR5 および CX3CR1 と各受容体に対するリガンドはいずれも間質血管系分画に優位に発現していた。総じて、CCR5 の欠損により、肥満による炎症とそれに伴うインスリン抵抗性、糖脂質代謝異常の発症は抵抗性を示すことから、肥満による炎症の誘導とインスリン抵抗性の形成において、ケモカイン受容体 CCR5 によるシグナルが重要であることを明らかにした (以上の内容は Diabetes 2012 IN PRESS)。ケモカイン受容体 CCR5 は 2 型糖尿病の創薬の標的となることが期待される。

今後は、CX3CR1 に関して、遺伝子改変マウスを用いた解析を進め、炎症を介した糖代謝調整機構における役割を明らかにしたい。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Kitade H, Sawamoto K, Nagashimada M, Inoue H, Yamamoto Y, Sai Y, Takamura T, Yamamoto H, Miyamoto K, Ginsberg HN, Mukaida N, Kaneko S, Ota T\*: CCR5 plays a critical role in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating both macrophage recruitment and M1/M2 status. Diabetes IN PRESS doi:10.2337/db11-1506

\*Corresponding author 査読有

2. Kimura K, Yamada T, Matsumoto M, Kido Y, Hosooka T, Asahara S, Matsuda T, Ota T, Watanabe H, Sai Y, Miyamoto K, Kaneko S, Kasuga M, Inoue H: Endoplasmic reticulum stress inhibits STAT3-dependent suppression of hepatic gluconeogenesis via dephosphorylation and deacetylation. Diabetes 61:61-73, 2012 査読有

3. Misu H, Ishikura K, Kurita S, Takeshita Y, Ota T, Saito Y, Takahashi K, Kaneko S, Takamura T: Inverse Correlation between Serum Levels of Selenoprotein P and Adiponectin in Patients with Type 2 Diabetes. PLoS One 7:e34952, 2012 査読有

4. Caviglia JM\*, Gayet C\*, Ota T\*, Hernandez-Ono A, Conlon DM, Jiang H, Fisher EA, Ginsberg HN: Different fatty acids inhibit apolipoprotein B100 secretion by different pathways: Unique roles for endoplasmic reticulum stress, ceramide, and autophagy. J Lipid Res 52:1636-1651, 2011 \*Co-first author 査読有

5. 太田嗣人: 脂肪肝の成因としての小胞体ストレスの意義, 小胞体ストレスと疾患 Bio Clinica 26(7):28-32, 2011 査読無

6. Misu H, Takamura T, Takayama H, Hayashi H, Matsuzawa-Nagata N, Kurita S, Ishikura K, Ando H, Takeshita Y, Ota T, Sakurai M, Yamashita T, Mizukoshi E, Honda M, Miyamoto K, Kubota T, Kubota N, Kadowaki

T, Kim HJ, Lee IK, Minokoshi Y, Saito Y, Takahashi K, Yamada Y, Takakura N, Kaneko S: A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. Cell Metab 12:483-495, 2010 査読有

7. Kobayashi D, Takamura M, Murai H, Usui S, Ikeda T, Inomata J, Takashima S, Kato T, Furusho H, Takeshita Y, Ota T, Takamura T, Kaneko S: Effect of pioglitazone on muscle sympathetic nerve activity in type 2 diabetes mellitus with alpha-glucosidase inhibitor. Auton Neurosci 158:86-91, 2010 査読有

8. 太田嗣人, 篁 俊成: 慢性炎症とインスリン抵抗性をリンクするケモカインの役割, メタボリックシンドロームII (後篇) -メタボリックシンドロームの基礎-成因と病態/遺伝子・病態・標的分子の面から: ケモカイン最新医学 66(6):192-204, 2011 査読無

9. 太田嗣人, 篁 俊成: 肝疾患における血液生化学検査の臨床的意義, 脂質一般検査 肝胆膵 60: 541-547, 2010 査読無

[学会発表] (計 20 件)

1. 太田嗣人, 北出紘規, 澤本一樹, 井上啓, 篁俊成, 宮本謙一, 向田直史, 金子周一  
インスリン抵抗性の形成におけるケモカインレセプターCCR5 の役割 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2010 年 5 月 29 日、岡山全日空ホテル, (岡山)
2. TSUGUHITO OTA, HIRONORI KITADE, KAZUKI SAWAMOTO, HIROSHI INOUE, TOSHINARI TAKAMURA, KEN-ICHI MIYAMOTO,

NAOFUMI MUKAIDA, SHUICHI KANEKO, CCR5 Ablation Prevents Insulin Resistance Induced by High-Fat Feeding or Leptin Deficiency 第 70 回アメリカ糖尿病学会, 2010 年 6 月 27 日  
オーランド, (米国)

3. Tsuguhito Ota, Hironori Kitade, Kazuki Sawamoto, Hiroshi Inoue, Shuichi Kaneko CCR5 promotes adipose tissue inflammation and Insulin resistance in obesity 第 46 回欧州糖尿病学会議 2010 年 9 月 23 日 ストックホルム, (スウェーデン)

4. 太田嗣人, 北出紘規, 澤本一樹, 井上啓, 向田直史, 金子周一 肥満による炎症とインスリン抵抗性の形成によるケモカイン受容体 CCR5 の重要性 第 31 回日本肥満学会, 2010 年 10 月 1 日 前橋テルサ, (群馬)

5. T Ota, H Kitade, K Sawamoto, H Inoue, T Takamura, K Miyamoto, N Mukaida, S Kaneko CCR5 PROMOTES ADIPOSE TISSUE INFLAMMATION AND WHOLE-BODY INSULIN RESISTANCE 第 8 回国際糖尿病連合 西太平洋地区会議 2010 年 10 月 19 日 釜山、(韓国)

6. 北出紘規, 太田嗣人, 澤本一樹, 井上 啓, 篁 俊成, 宮本謙一, 向田直史, 金子周一  
インスリン抵抗性形成におけるケモカインレセプターCCR5 の役割 2010 年 10 月 22 日 第 25 回日本糖尿病合併症学会, びわ湖ホール, (滋賀)

7. 太田嗣人, 北出紘規, 澤本一樹, 井上 啓,

- 篁 俊成, 宮本謙一, 向田直史, 金子周一  
インスリン抵抗性の形成におけるケ  
モカイン受容体 CCR5 の役割 第 22 回日  
本分子糖尿病シンポジウム, 2010 年 12  
月 4 日 東京コンファレンスセンター品  
川, (東京)
8. KAZUKI SAWAMOTO, TSUGUHITO OTA,  
HIRONORI KITADE, HIROSHI INOUE,  
TOSHINARI TAKAMURA, KEN-ICHI MIYAMOTO,  
NAOFUMI MUKAIDA, SHUICHI KANEKO  
CCR5 Ablation Prevents Insulin  
Resistance Induced by High-Fat  
Feeding or Leptin Deficiency 第 33  
回日本分子生物学会年会、2010 年 12 月  
10 日 第 83 回日本生化学会大会合同大  
会、神戸国際会議場 (兵庫)
  9. 太田嗣人, 北出紘規, 澤本一樹, 井上啓,  
篁俊成, 宮本謙一, 向田直史, 金子周一  
ケモカイン受容体 CCR5 の欠損は脂肪組織  
の炎症と全身のインスリン抵抗性を改  
善する 2011 年 4 月 23 日 第 84 回日本  
内分泌学会学術総会, 神戸国際会議場,  
(兵庫)
  10. 太田嗣人, 北出紘規, 澤本一樹, 井上啓,  
篁俊成, 宮本謙一, 向田直史, 金子周一  
CCR5 欠損は ob/ob マウスの脂肪組織の  
炎症を軽減し糖代謝異常を改善する  
2011 年 5 月 21 日 第 54 回日本糖尿病学  
会年次学術集会, ロイトン札幌, (北海  
道)
  11. 澤本一樹, 北出紘規, Ni Yinhua, 山本靖彦,  
井上啓, 篁俊成, 宮本謙一, 山本博, 向田  
直史, 金子周一, 太田嗣人 肥満による  
インスリン抵抗性の発症には CCR5 によ
- る脂肪組織マクロファージの量の変化  
と質の調節が関わる 第 54 回日本糖尿  
病学会年次学術集会, 2011 年 5 月 21  
日 ロイトン札幌, (北海道)
12. T. Ota, H Kitade, K Sawamoto, H  
Inoue, T Takamura, K Miyamoto, N  
Mukaida, S Kaneko CCR5 ablation  
prevents insulin resistance by  
high-fat feeding or leptin deficiency  
日本分子生物学会第 11 回春季シンポジ  
ウム, 2011 年 5 月 26 日 石川県立音楽  
堂, (石川)
  13. TSUGUHITO OTA, KAZUKI SAWAMOTO,  
HIRONORI KITADE, YASUHIKO YAMAMOTO,  
HIROSHI INOUE, TOSHINARI TAKAMURA,  
KEN-ICHI MIYAMOTO, HIROSHI YAMAMOTO,  
NAOFUMI MUKAIDA, SHUICHI KANEKO CCR5  
plays a critical role in the  
inflammatory adipose tissue response  
to high-fat feeding and obesity by  
regulating both macrophage  
recruitment and M1/M2 status 第 71 回  
アメリカ糖尿病学会, 2011 年 6 月 24 日  
サンディエゴ, (米国)
  14. T. Ota, K. Sawamoto, H. Kitade, Y. Yamamot  
o, H. Inoue, T. Takamura, H. Yamamoto, N. M  
ukaida, S. Kaneko CCR5 deficiency  
attenuates obesity-induced insulin  
resistance through M2 dominant shift  
in adipose tissue macrophage 第 47 回  
欧州糖尿病学会議 総会 2011 年 9 月 15  
日リスボン (ポルトガル)
  15. 太田嗣人, 北出紘規, 澤本一樹, 井上啓,  
金子周一 CCR5 の欠損は ob/ob マウス

の脂肪組織の炎症を軽減しインスリン抵抗性を改善する 第 32 回日本肥満学会、2011 年 9 月 24 日淡路夢舞台国際会議場、(兵庫県)

16. 太田嗣人, 澤本一樹, 北出紘規, 山本靖彦, 井上啓, 篁俊成, 山本博, 向田直史, 金子周一 肥満による炎症とインスリン抵抗性をリンクする CCR5 の意義～脂肪組織マクロファージの量および質の調整への関与～ 第 26 回日本糖尿病合併症学会、2011 年 10 月 14 日 大宮ソニックシティ、(埼玉県)
17. Tsuguhito Ota, Kazuki Sawamoto, Hironori Kitade, Yasuhiko Yamamoto, Hiroshi Inoue, Toshinari Takamura, Ken-ichi Miyamoto, Hiroshi Yamamoto Naofumi Mukaida, Shuichi Kaneko Loss of CCR5 attenuates obesity-induced insulin resistance through M2 dominant shift in adipose tissue macrophage 2011 年 12 月 8 日 第 21 回 2011 年国際糖尿病学会議 (IDF2011)、ドバイ、(アラブ首長国連邦)
18. Tsuguhito Ota, Kazuki Sawamoto, Hironori Kitade, Yasuhiko Yamamoto, Hiroshi Inoue, Toshinari Takamura, Ken-ichi Miyamoto, Hiroshi Yamamoto Naofumi Mukaida, Shuichi Kaneko CCR5 plays a critical role in the inflammatory adipose tissue response to obesity by regulating both macrophage recruitment and M1/M2 status 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日 パシフィコ横浜, 横浜

19. 太田嗣人 1、澤本一樹 1、北出紘規 1、山本靖彦 2、井上 啓 1、篁 俊成 3、山本 博 2、向田直史 4、金子周一 3 肥満による炎症とインスリン抵抗性をリンクする CCR5 の役割 ～脂肪組織マクロファージの量および質の調節への関与～ 第 26 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 2012 年 2 月 17 日 愛知県産業労働センター (愛知)

20. Tsuguhito Ota, Hironori Kitade, Kazuki Sawamoto, Hiroshi Inoue, Toshinari Takamura, Naofumi Mukaida, Shuichi Kaneko CCR5 ablation prevents insulin resistance induced by high-fat feeding or leptin deficiency 第 16 回国際動脈硬化シンポジウム、2012 年 3 月 28 日シドニー、(オーストラリア)

[その他]

ホームページ等

<http://ota.w3.kanazawa-u.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

太田 嗣人 (OTA TSUGUHITO)

金沢大学・フロンティアサイエンス機構・特任助教

研究者番号 : 60397213

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

該当なし