

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700755

研究課題名(和文) 結核菌感染によるメタボリックシンドローム病態の変化

研究課題名(英文) Effect of Mycobacterium Bovis Bacillus Calmette&amp;#8211;Gu&amp;#233;rin on metabolic syndrome.

研究代表者

稲福 征志 (Inafuku, Masashi)

琉球大学・熱帯生物圏研究センター・研究員

研究者番号：90457458

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：先進国においては「肥満」と「結核」の低所得者層への集積が懸念される。結核菌感染がメタボリックシンドローム病態に与える影響についての基礎的知見を得るべく、本研究は弱毒ワクチン株BCG菌を用いた検証を行った。肥満マウスへのBCG菌接種はメタボリックシンドロームの基盤病態である「インスリン抵抗性」の改善を示していた。さらにBCG菌接種は肝臓の脂肪合成と脂質蓄積を顕著に抑制していた。培養肝臓細胞を用いたところ、脂肪酸暴露による小胞体ストレスの発生をBCG菌は抑制しており、その結果としてインスリン抵抗性が緩和されることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)： Tuberculosis (TB) was strongly associated with neighborhood poverty in the developed countries. To analyze influence of systemic inflammatory response to metabolic syndrome, we inoculated an attenuated vaccine strain of Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Gurin (BCG) into leptin-deficient ob/ob mice. BCG administration significantly decreased a homeostasis model assessment of insulin resistance. Hepatic lipid accumulation and macrovesicular steatosis were markedly alleviated, and the hepatic lipogenesis was significantly decreased in the BCG injected mice. We also exposed human hepatocellular carcinoma HepG2 cells to palmitate, which enhanced endoplasmic reticulum stress and impaired insulin sensitivity. BCG treatment ameliorated both of these detrimental events. This study therefore suggested that BCG administration suppressed development of nonalcoholic fatty liver disease, at least partly, by inhibiting lipogenesis and alleviating fatty acid-induced insulin resistance in the liver.

研究分野：栄養科学

キーワード：脂肪肝 インスリン抵抗性 小胞体ストレス BCG菌

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 肥満と貧困

日本や欧米を中心とした先進国では肥満が急増しており、糖尿病、高血圧、高脂血症、心血管疾患、いわゆるメタボリックシンドロームの医療費の増大は大きな社会的な問題となっている。過去において肥満は贅沢病ととらえられてきたが、近年の先進国では貧困層に多く認められることが報告されている。その要因としては、貧困層が購入できる安価な食品は炭水化物と脂肪の多い高カロリーな物が多いことが上げられている。2009年における貧困率が16%であり、貧富の差が広がりつつある日本においても、貧困層における肥満が増加することは十分に考えられる。健康管理が難しいとされる貧困層における肥満の増加は、健康問題の重度化を加速させる可能性がある。

### (2) 肥満と感染症

これまでの研究から、メタボリックシンドロームの発症には各組織の慢性炎症が重要であることが報告されており、肝臓や脂肪組織の様々な免疫担当細胞が、病態形成に関与していることが明らかにされつつある。また、肥満によってもたらされる免疫異常は、感染症に対する抵抗性を失わせることが解っている。実際、肥満状態にあるマウスが正常マウスに比べて歯周病に感染しやすい事が証明されている。このことは肥満のヒトが標準体重のヒトより歯周病になりやすいという事実と相関している。さらに、歯周病原菌の感染によって、インスリン抵抗性や動脈硬化症の増悪化が報告されており、肥満によって誘導される易感染性は単に感染症を引き起こすだけでなく、メタボリックシンドロームの病態自体にも大きく影響を与える可能性が考えられる。このことは、アデノウイルス感染が幹細胞の脂肪細胞への分化を促進し、肥満を亢進させるという報告やクラミジア細菌感染が動脈硬化症を増悪化させるという報告からも予想できる。

### (3) 結核と肥満

先進国では「肥満」と「結核」の両疾病が低所得者層に集積することが懸念される。「肥満」と「結核」の双方に着目した研究は幾つか行われている。血中レプチン濃度の低下による結核菌の活性化などが報告されており、他の感染症と同様に肥満は結核リスクを高めることが示唆されてきている。しかし肥満が肺結核感染のリスクを有意に低くすると報告されており、「肥満」が「結核」に与える影響は明確化されては

いない。メタボリックシンドローム病態の増悪化には、脂肪組織や肝臓における炎症性サイトカインの関与が重要であるが、結核菌の脂質や細胞骨格は非特異的に免疫担当細胞の炎症性サイトカインの産生を誘導する。そのため、肥満状態における結核菌の曝露はメタボリックシンドローム病態の増悪化を誘発する可能性がある。

## 2. 研究の目的

「肥満」と「結核」の両疾患は、経済弱者において罹患率が増加することが容易に予想でき、両疾患の相互関係について検証することは、今後の健康問題を考える上で重要であると思われる。しかしながら、上記のように「肥満」が「結核」に与える影響についてはこれまで幾つかの研究が行われているが、その影響についてはまだ明確化されていない。当該研究は、「肥満」と「結核」の相互関係を明確化することを最大の目的としているが、具体的には肥満モデルマウスを用いた以下のような現象を明らかにする必要がある。従って、本申請研究は結核菌感染による肥満病態の変化について焦点を当て、メタボリックシンドローム病態の変化について検討を行う。

## 3. 研究の方法

レプチン欠損によりメタボリックシンドローム病態を呈する *ob/ob* マウスに結核菌感染モデルのプロトタイプである *Mycobacterium bovis* BCG 菌株 (以下 BCG 菌) を尾静脈し、その4週間におけるマウスの病態変動について検証を行った。なお対照群には BCG 菌懸濁の際に用いた PBS(-) を投与した。また、BCG 菌が肝臓の脂質代謝などに及ぼす影響についての詳細を解析すべく、ヒト肝癌由来 HepG2 細胞を BCG 菌処理した際の代謝変動などを解析した。

## 4. 研究成果

(1) 食餌摂取量は対照群と BCG 感染群間に差がなかったにもかかわらず、BCG 菌感染群の腎臓周辺脂肪組織重量、ならびに肝臓の中性脂質濃度と総コレステロール濃度は対照群よりも有意に低い値を示しており、劇的な脂肪肝の改善が認められた (図1)。また、BCG 感染群の血中インスリン濃度とインスリン抵抗性 (HOMA-IR) は有意に低く、血中高分子量アディポネクチン濃度は有意に高くなっていた (図2)。これらの結果は BCG 菌に感染することによって *ob/ob* マウスのメタボリックシンドローム病態の進展が抑制されていることを示すものであった。

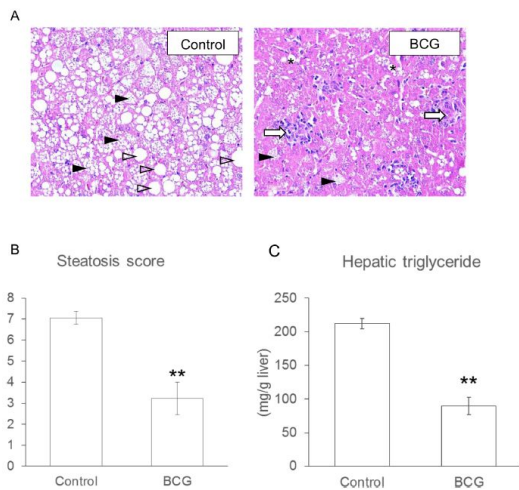


図1 BCG 菌投与による *ob/ob* マウスの脂肪肝改善

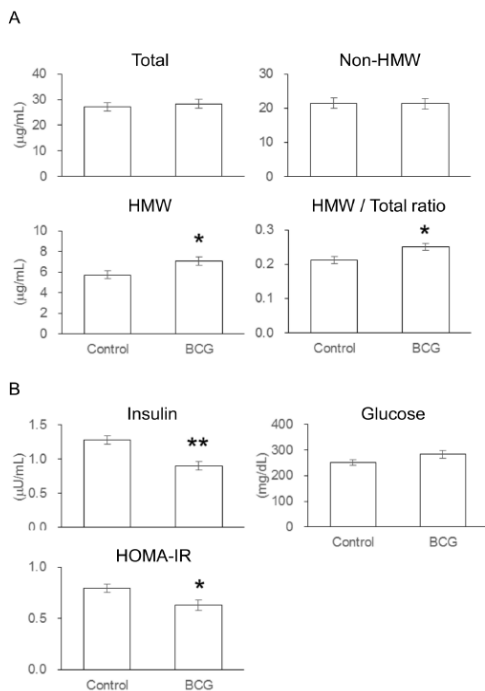


図2 BCG 菌投与による *ob/ob* マウスの血中アディポネクチンレベル (A) とインスリン代謝関連マーカー値 (B) の変動

(2) BCG 菌投与による脂肪肝の発症・進展抑制の分子機序を解明すべく、BCG 菌投与による肝臓の脂質代謝変動について解析した。BCG 投与によって肝臓の脂質合成系酵素の活性ならびに遺伝子発現は有意に低下していた (図3)。肝臓の脂肪酸合成酵素の活性と脂肪酸合成系に NADPH を供給するリンゴ酸酵素 (ME) の活性も有意に低下していた。一方、脂質分解系の酵素活性ならびに遺伝子発現においては、BCG 菌投与によって一様の変動は認められなかった。

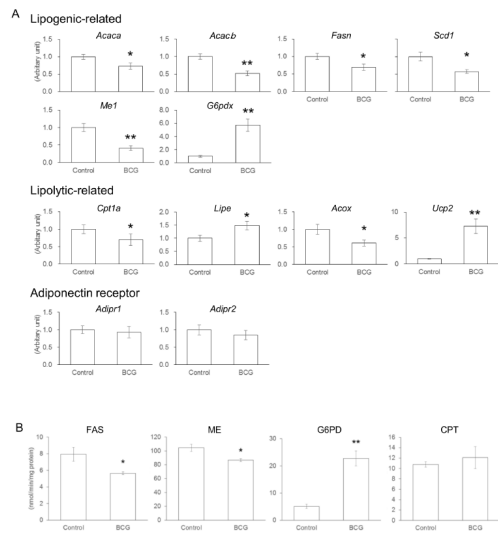


図3 肝臓の脂質代謝酵素遺伝子発現 (A) と酵素活性 (B)

(3) BCG 菌が肝臓の脂質代謝に与える影響の詳細を検証すべく、HepG2 細胞を BCG 菌で処理した。脂質合成の変動は認められなかったものの (図4 A)、脂肪酸暴露によって引き起こされるインスリン抵抗性が BCG 菌処理によって緩和することが認められた (図4 D)。近年、脂肪酸誘導インスリン抵抗性には小胞体ストレスの関与が注目されており、脂肪酸暴露した HepG2 細胞における小胞体ストレスの発生は BCG 菌処理によって抑制されていた (図4 B-C)。従って、BCG 菌は小胞体ストレス抑制を介して脂肪酸誘導性インスリン抵抗性を緩和することで、マウスの脂肪肝を抑制していることが示唆された。

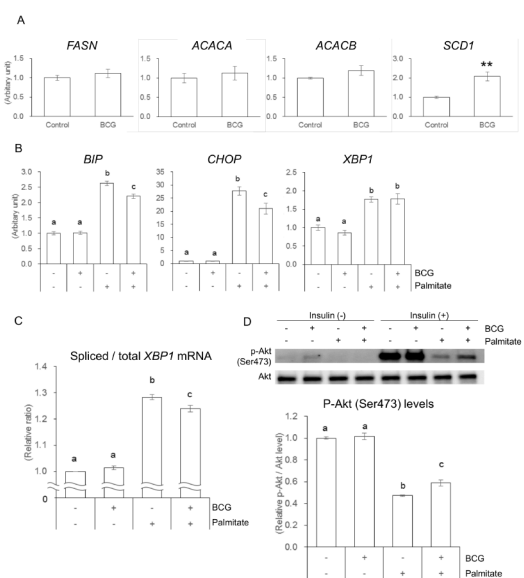


図4 BCG 菌処理による HepG2 細胞の脂質代謝変動 (A)、小胞体ストレス (B、C) とインスリン反応性 (D) の変動

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Inafuku, M., Matsuzaki, G., and Oku, H.  
Intravenous *Mycobacterium bovis* Bacillus  
Calmette-Guérin ameliorates nonalcoholic  
fatty liver disease in obese, diabetic  
*ob/ob* mice. PLOS ONE(査読有) 2015; 10(6):  
e0128676.

DOI: 10.1371/journal.pone.0128676.

〔学会発表〕(計 1 件)

稲福 征志、平良直幸、Ruwani N. Nugara、  
屋 宏典、非アルコール性脂肪肝に及ぼす  
BCG 菌投与の影響、日本栄養・食糧学会 九  
州・沖縄支部大会(熊本県立大、熊本)、口  
頭発表、講演番号 A-12、2014 年 10 月

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

稲福 征志 (INAFUKU, Masashi)

琉球大学、熱帯生物圏研究センター・研究員

研究者番号: 90457458