

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25670434

研究課題名(和文) 内臓脂肪蓄積病態への腸間膜リンパ節の関与を明らかにする研究

研究課題名(英文) The role of mesenteric lymph node on visceral fat accumulation and metabolic disorders

研究代表者

下村 伊一郎 (SHIMOMURA, IICHIRO)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60346145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：内臓脂肪蓄積を基盤としたメタボリックシンドロームは糖脂質代謝異常や心血管疾患の危険因子である。腸間膜脂肪の基部には腸間膜リンパ節が存在しており、肥満にともなって、脂肪組織には炎症性細胞が浸潤する。マウスの腸間膜リンパ節を切除すると、OGTTでの耐糖能が悪化した。腸間膜脂肪ではマクロファージ数が著明に増加し、高脂肪食によってさらに増加した。腸間膜脂肪では抗炎症的に作用するTregマーカーが減少していた。すなわち、腸間膜リンパ節を切除するとTreg数の減少や、マクロファージの増加といった免疫系の変化が起こり、耐糖能が悪化する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Accumulation of visceral WATs causes abnormalities in glucose and lipid metabolism resulting in atherosclerosis and cardiovascular diseases. Mesenteric lymph node (MLN) is located in the base of mesenteric WAT. The aim of this study is to reveal the significance of mesenteric lymph node against inflammation and metabolic disorders. Mesenteric lymph nodes are removed in male C57BL/6J mice {MLNrem mice}, and glucose tolerance and markers of immune cells were compared to sham-operated mice (sham mice). MLNrem mice showed impaired glucose tolerance compared to sham mice. Number of macrophages was increased in mesenteric WAT of MLNrem mice, and further induced by feeding of high-fat diet. Expression of marker genes of Treg was decreased in MLNrem mice. Collectively, MLN is important to protect mesenteric WATs from inflammation by inducing Tregs and inhibiting infiltration of macrophage, and maintain glucose homeostasis.

研究分野：医歯薬学

キーワード：腸間膜脂肪 アディポネクチン 腸間膜リンパ節 Treg

1. 研究開始当初の背景

内臓脂肪蓄積は糖脂質代謝異常や高血圧の発症基盤である。ヒトの内臓脂肪は腸間膜や大網脂肪などの門脈還流域の脂肪組織である。しかし、マウスを用いた従来の脂肪組織病態学では、体循環還流の精巣上体脂肪が用いられており、腸間膜脂肪組織の解析はほとんど無い。

申請者らは、腸間膜脂肪組織では精巣上体脂肪と比べて、高脂肪食によるマクロファージの浸潤が多いことを見出した。また、腸間膜脂肪組織の基部には腸間膜リンパ節が存在していることから、内臓脂肪蓄積に伴う脂肪組織の慢性炎症状態と、腸間膜リンパ節を介した免疫細胞の制御に関連があることを予想した。私共は高脂肪食負荷マウスで腸間膜リンパ節自体にも多くの脂肪滴が蓄積しており、肥満モデルマウスでは腸間膜リンパ節において炎症性サイトカインの発現が上昇することを見いだした。したがって、肥満にもなる腸間膜リンパ節への脂肪蓄積は、まず腸間膜リンパ節における免疫細胞の変化を引き起こし、次に腸間膜脂肪組織の炎症状態が惹起される可能性がある

2. 研究の目的

生理的状态における腸間膜リンパ節の役割を明らかにし、肥満病態時の腸間膜リンパ節の異常と慢性炎症の関連を検討する。

3. 研究の方法

(1) 動物モデル

C57BL/6J マウスに対して、腸間膜リンパ節切除モデルと、対照として、sham 手術モデルを作製した。

(i) 高脂肪食負荷を行い、体重や内臓脂肪量、糖代謝、アディポサイトカインの発現量、酸化ストレス産生の比較を行った。

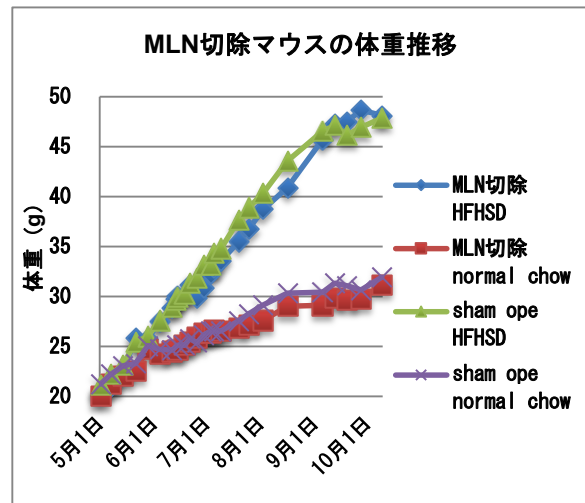
(ii) 腸間膜脂肪組織のマクロファージ浸潤の変化をフローサイトメトリーにより解析した。

(iii) 腸間膜リンパ節における Treg のマーカー発現量を測定した。

4. 研究成果

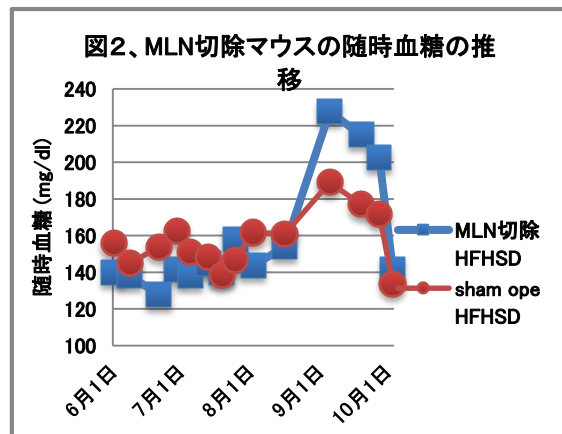
(1) MLN切除マウスの体重の解析

オスC57BL/6Jの腸間膜リンパ節を切除し、shamマウスと体重変化を解析した。切除後に、通常食および高脂肪高シヨ糖食を投与した。体重の推移はMLN切除マウスとコントロールマウスで差を認めなかった。



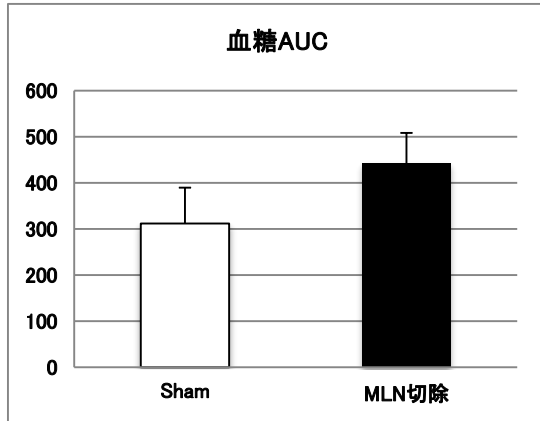
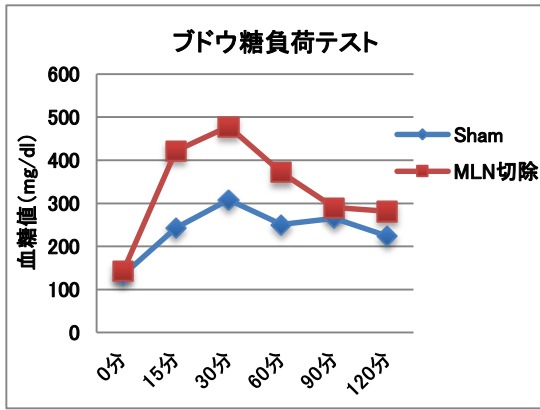
(2) 高脂肪高シヨ糖食負荷MLN切除マウスの血糖値の解析

高脂肪高シヨ糖食負荷MLN切除マウスの随時血糖を測定した。切除後3ヶ月より、MLN切除マウスの血糖値は上昇傾向であった。



(2) 高脂肪高シヨ糖食負荷MLN切除マウスの耐糖能の解析

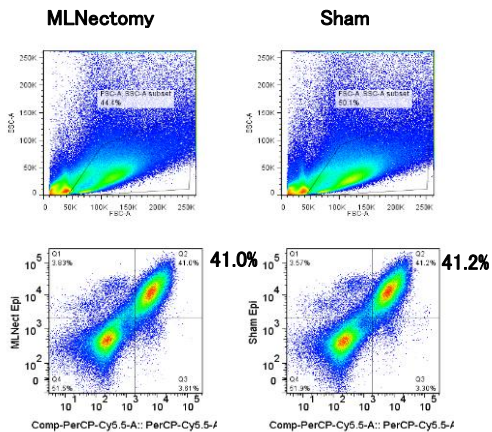
高脂肪高シヨ糖食負荷MLN切除マウスにブドウ糖を腹腔内投与し、血糖の推移を観察した。MLN切除マウスでは耐糖能が悪化傾向であった。



(4) 高脂肪高シヨ糖食負荷MLN切除マウスの精巣周囲脂肪、腸間膜脂肪におけるマクロファージ数の比較

MLN切除後高脂肪高シヨ糖食を負荷した精巣周囲脂肪においてフローサイトメトリーでマクロファージ数を解析した。マクロファージャー数に差はなかった。

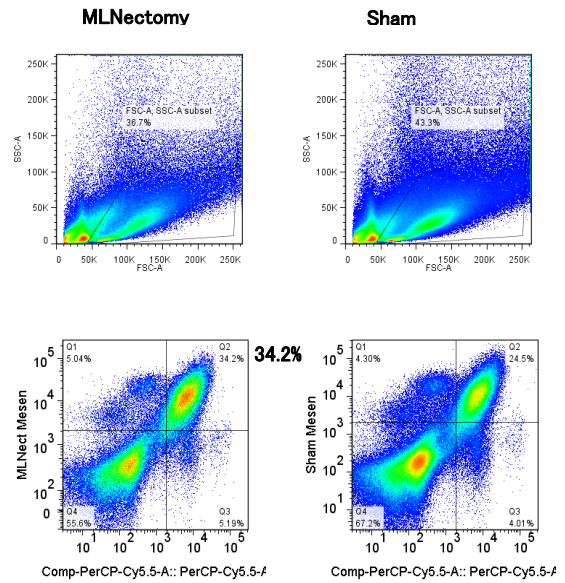
精巣周囲脂肪



MLN切除後高脂肪高シヨ糖食を負荷した腸間膜脂肪においてフローサイトメトリーでマクロファージャー数を解析した。マクロファージャー数

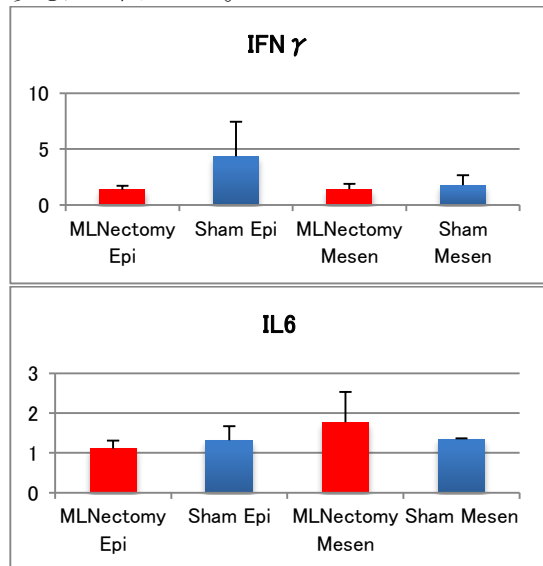
は増加傾向であった。

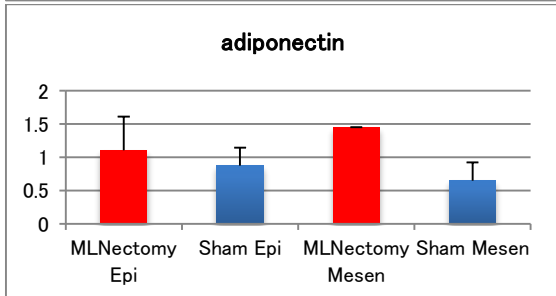
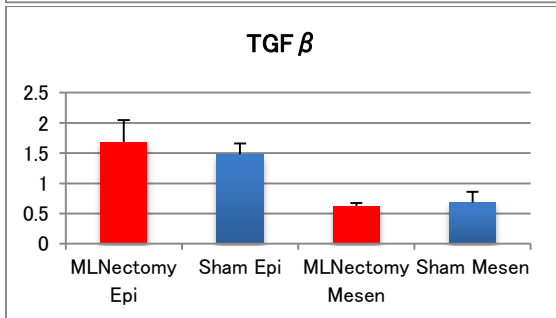
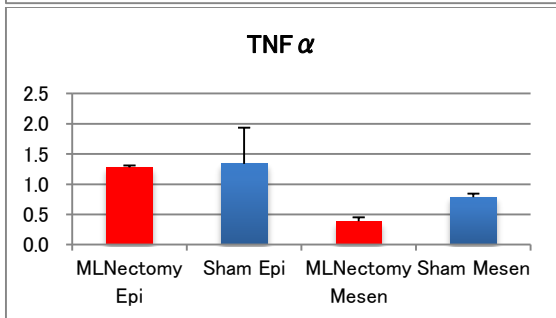
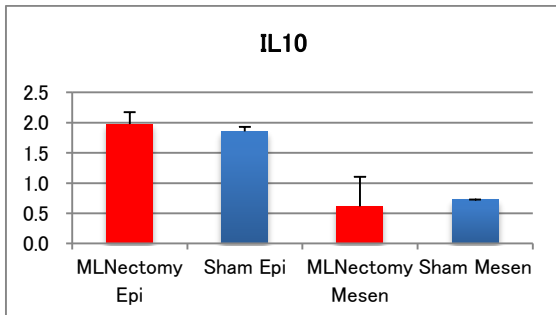
腸間膜脂肪組織



(5) 脂肪高シヨ糖食負荷MLN切除マウスの腸間膜脂肪における遺伝子発現量の解析

脂肪組織における遺伝子発現量を定量的リアルタイムPCR法で測定した。精巣周囲脂肪 (左2レーン;epiと記載) と腸間膜脂肪 (右2レーン;Mesenと記載)。炎症性サイトカインであるIFN γ やTNF α はMLN切除で低下傾向であり、アディポネクチンは増加傾向であった。マクロファージャーの浸潤によって炎症が悪化することが予想されたが、予想に反した結果であった。また、腸間膜脂肪では精巣周囲脂肪よりも、炎症性サイトカインであるTNF α も抗炎症性のIL10の発現も共に低かった。





(6) 脂肪高シヨ糖食負荷MLN切除マウスの腸間膜脂肪における免疫細胞マーカーの解析

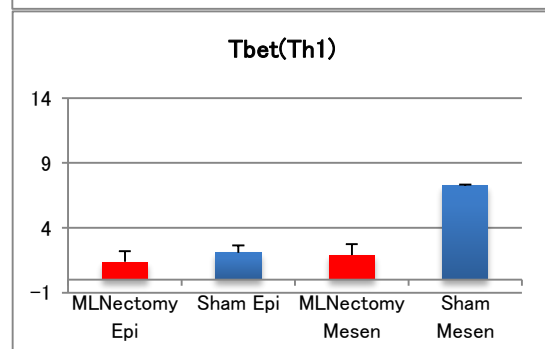
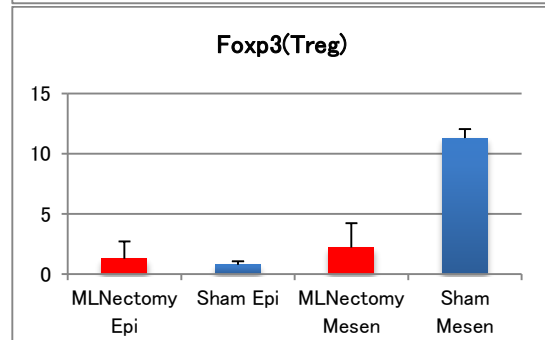
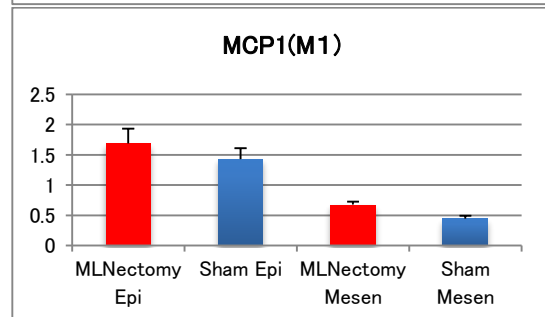
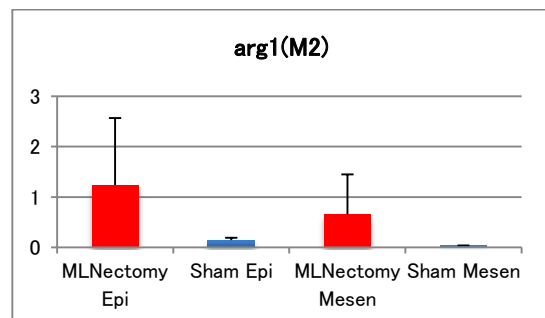
マクロファージ、Treg、Th1リンパ球のマーカー遺伝子発現量を定量的リアルタイムPCR法で測定した。精巣周囲脂肪（左2レーン;epiと記載）と腸間膜脂肪（右2レーン;Mesenと記載）。MLN切除によって精巣周囲脂肪、腸間膜脂肪共に、マクロファージが増加した。TregやTh1リンパ球マーカーは腸間膜脂肪に多く、MLN切除によって減少した。

以上の結果から、腸間膜リンパ節切除は腸間

膜脂肪組織におけるTh1リンパ球とTregを減少させ、マクロファージを増加させた。これらの結果として、糖代謝が悪化したと考えられた。

今回の結果ではMLN切除によって脂肪組織の炎症性サイトカインは増加しておらず、マクロファージ浸潤と一致しなかった。

Tregはマクロファージ等の抗原提示細胞やリンパ球に対して抑制的に作用する細胞であり、MLN切除によってTregが減少することが、脂肪組織のマクロファージ浸潤と関連する可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文]

Onodera T, Fukuhara A, Jang MH, Shin JH, Aoi K, Kikuta J, Otsuki M, Ishii M, Shimomura I.

Adipose tissue macrophages induce PPAR γ -high FOXP3(+) regulatory T cells.

Sci Rep. 2015 Nov 19;5:16801.

[学会発表] (計 2 件)

第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会

2015 年 5 月 21-24 日

山口

小野寺俊晴、福原淳範、張 明浩、北村哲宏、大月道夫、下村伊一郎

脂肪組織マクロファージは PPAR γ 陽性調節性 T 細胞(Treg)を誘導する

Keystone SYMPOSIA

Obesity and Adipose Tissue Biology

2016 年 2 月 17 日

カナダ バンフ

小野寺俊晴、福原淳範、大月道夫、下村伊一郎

Adipose tissue macrophages induce PPAR γ -high FOXP3+ regulatory T cells

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下村 伊一郎 (SHIMOMURA, Ichiro)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：60346145

(2) 研究分担者

福原 淳範 (FUKUHARA, Atsunori)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00437328