

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861816

研究課題名(和文)肥満誘導性疾患発症におけるCCL19-CCR7経路の役割解明

研究課題名(英文) Influences of CCL19-CCR7 pathway on obesity-induced metabolic disease

研究代表者

岩下 未咲 (Iwashita, Misaki)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：80611326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、CCL19-CCR7経路が肥満誘導性慢性炎症およびインスリン抵抗性の発症に及ぼす影響を明らかにする目的で、脂肪細胞および肥満・糖尿病モデルマウス、Ccr7遺伝子欠損マウスを用いて、糖脂質代謝や組織中の炎症応答について検討を行った。その結果、脂肪組織中のCCL19産生量の増大には、活性化マクロファージ、樹状細胞等の免疫担当細胞の誘導が関与していることが示され、CCL19-CCR7経路はエネルギー代謝の制御に関与し肥満誘導性慢性炎症、インスリン抵抗性に影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to evaluate the role of CCL19-CCR7 axis on obesity and insulin resistance. CCL19 protein was elevated in the sera of obese model mice challenged by endotoxin. Ccr7(-/-) mice were protected from diet-induced obesity, insulin resistance, fatty liver and dyslipidemia and exhibited increased thermogenesis on high-fat feeding. CCL19 attracts activated dendritic cells. The expression of dendritic cell markers, CD11b and CD11c, was not observed in the adipose tissues of Ccr7(-/-) mice fed a high-fat diet, which might be closely associated with the protection of these mice from obesity. In this study, we demonstrated that CCL19-CCR7 pathway played a crucial role in inducing obesity and subsequent insulin resistance.

研究分野：歯周病学

キーワード：CCL19 CCR7 脂肪組織 インスリン抵抗性 樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

肥満や歯周病における慢性炎症は、2型糖尿病や動脈硬化症の原因となるインスリン抵抗性を惹起する。近年、肥満脂肪組織における炎症には脂肪細胞とマクロファージの相互作用に加え、その他の免疫系細胞が関与していることが示唆されているものの詳細は不明である。申請者らはこれまでに、*in vitro*での肥満脂肪組織モデルにおいてケモカイン *Ccl19* 遺伝子発現が増大すること、さらに、CCL19の受容体である CCR7 遺伝子欠損 (*Ccr7*KO) マウスが食餌誘導性肥満に対し抵抗性を示すことを見出した。しかしながら、CCL19-CCR7 経路と肥満誘導性インスリン抵抗性との関連は明らかではない。

2. 研究の目的

CCL19-CCR7 経路が肥満誘導性慢性炎症、インスリン抵抗性発症に及ぼす役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 3T3-L1 脂肪細胞単独培養時の *Ccl19* 遺伝子発現をマクロファージと共培養した脂肪細胞での発現レベルと比較検討する。

(2) 肥満・糖尿病モデルである高脂肪食 (HFD) 負荷、*ob/ob* マウスにおける各組織中の *Ccl19* 遺伝子発現、血中 CCL19 濃度について検討する。

(3) HFD を負荷した場合の *Ccr7* KO マウスの肝臓、脂肪組織における変化、エネルギー代謝に及ぼす影響を WT マウスと比較検討する。

4. 研究成果

脂肪細胞において Lipopolysaccharide (LPS)、Tumor Necrosis Factor (TNF) - α 刺激時の *Ccl19* 遺伝子発現は増大したが、LPS 刺激下でマクロファージと共培養した脂肪細胞ではより著明な遺伝子発現の増大を認めた (Fig 1A、B)。

肥満および糖尿病モデルである *ob/ob* および、16 週間 HFD を負荷したマウスの血中 CCL19 濃度はそれぞれ通常食を負荷した野生型 (WT) マウスに比べ有意な増大を認めた (Fig 2)。

HFD 負荷 WT マウスでは脂肪組織、肝臓における *Ccl19* 遺伝子発現の有意な増大を認めたが、*Ccr7*KO マウスでは HFD による影響を認めなかった (Fig 3)。

Ccr7 KO マウス肝臓では WT に比べ、HFD 誘導性の IRS-1 リン酸化抑制の減弱を認めた (Fig 4)。

WT マウスでは HFD 誘導性の脂肪組織重量の増大、脂肪細胞の肥大化、肝臓中の脂肪蓄積を認めた。さらに、脂肪組織中に CD11c

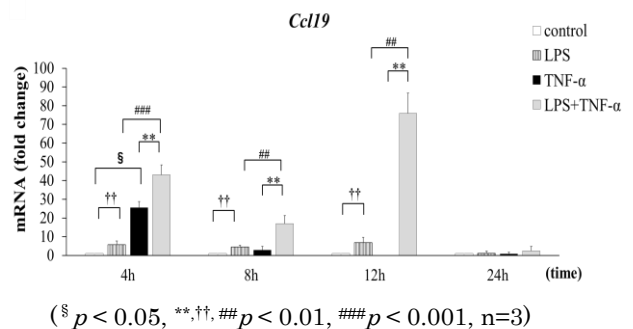
陽性細胞を含む炎症性細胞浸潤の亢進を認めたが、*Ccr7* KO マウスでは高脂肪食負荷によるこれらの変化を認めず、いずれも通常食群と同程度であった (Fig 5A-C, 6)。

HFD 負荷 *Ccr7*KO マウスでは冷刺激下での直腸温が有意に高く、また、脂肪組織中の *Ucp-1* 遺伝子発現の有意な亢進を認めた (Fig 7A, B)。

以上から、脂肪組織中の CCL19 産生量の増大には、活性化マクロファージ、樹状細胞等の免疫担当細胞の誘導が関与していることが示され、CCL19-CCR7 経路はエネルギー代謝の制御に関与し肥満誘導性慢性炎症、インスリン抵抗性の発症に影響を及ぼす可能性が示唆された。

Fig 1

A TNF- α 刺激、LPS 刺激時の脂肪細胞における *Ccl19* 遺伝子発現



B LPS 刺激マクロファージと共培養した脂肪細胞における遺伝子発現 (単独培養の脂肪細胞での遺伝子発現を基準)

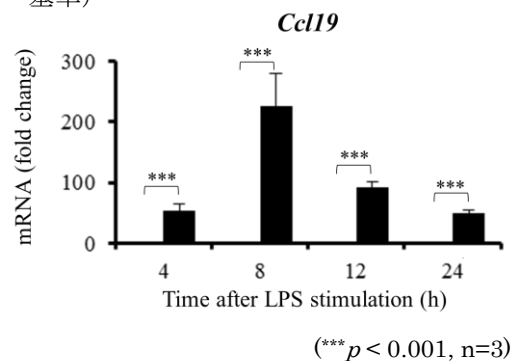


Fig 2 マウス血清中 CCL19 濃度

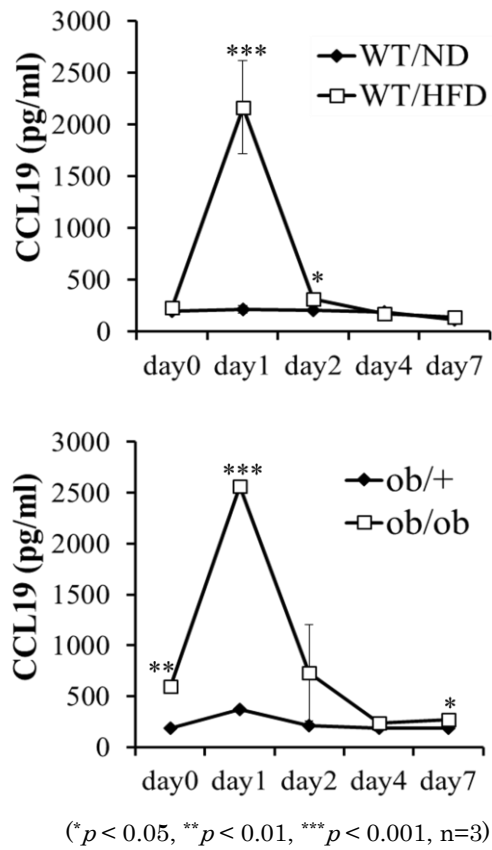


Fig 3 マウス脂肪組織遺伝子発現

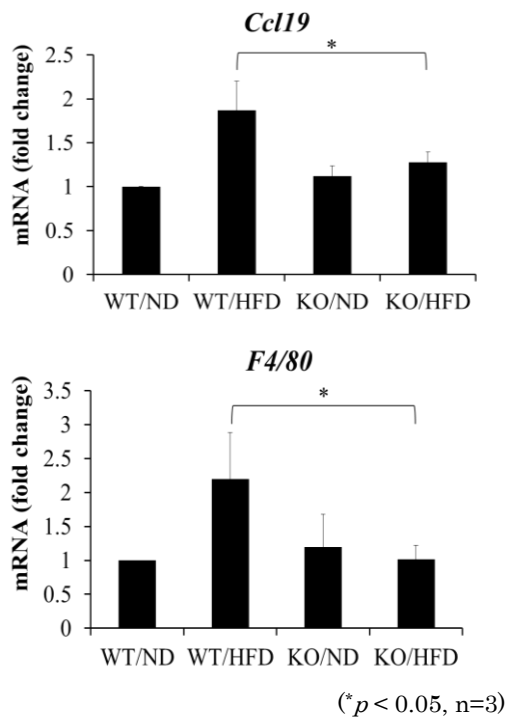


Fig 4 マウス肝臓 IRS-1 リン酸化

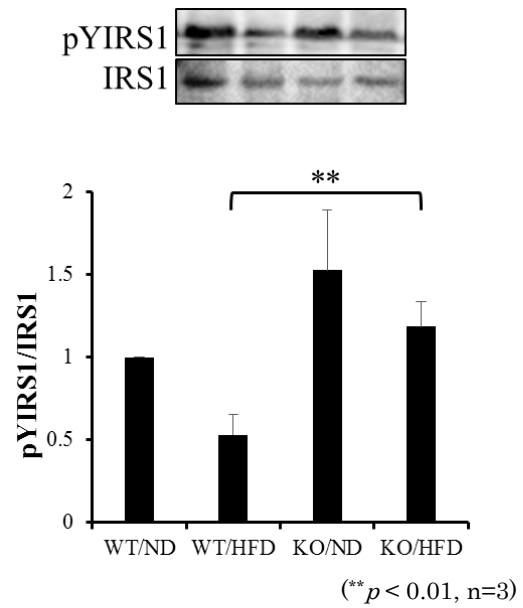
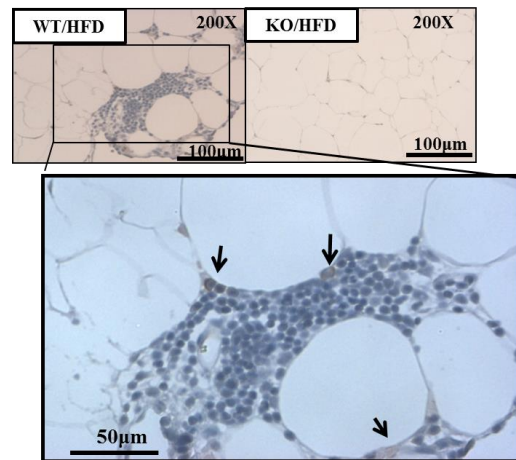
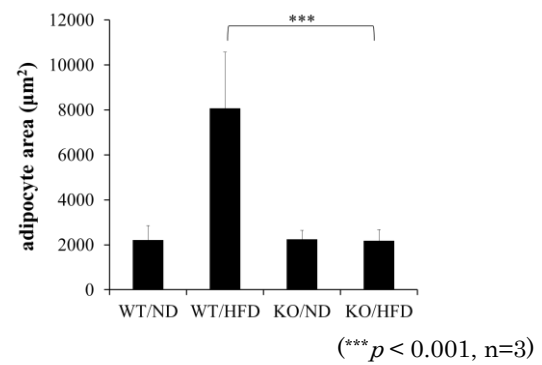


Fig 5

A マウス脂肪組織免疫染色像
矢印は CD11c 陽性細胞を示す。



B マウス脂肪細胞径



C 脂肪組織重量

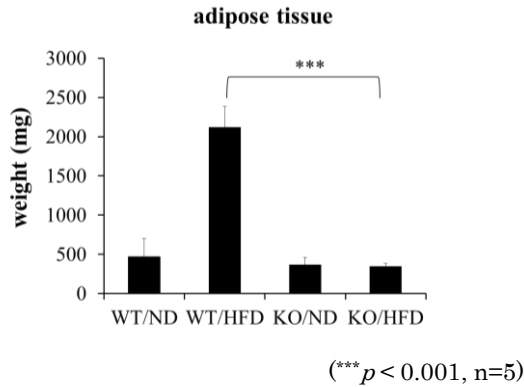


Fig 6 マウス肝臓組織 HE 染色像

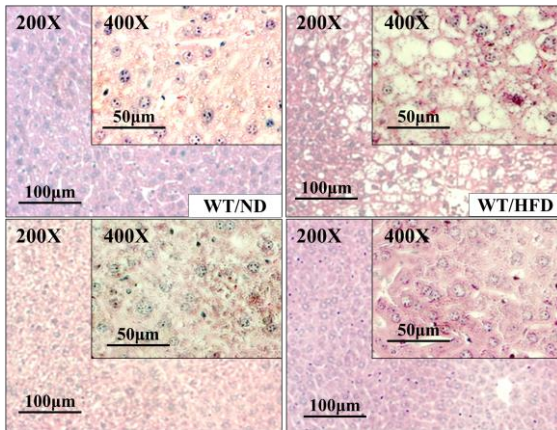
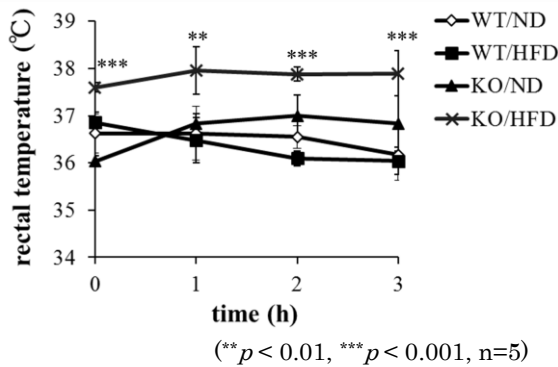
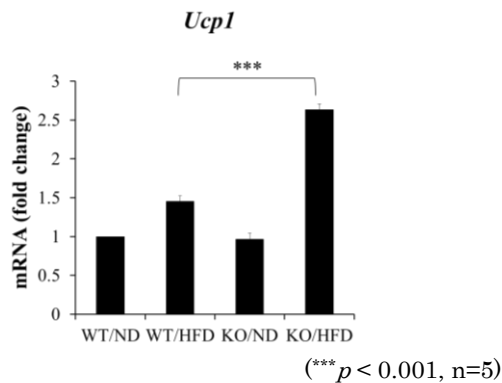


Fig 7

A 冷刺激下でのマウス直腸温の変化



B 脂肪組織遺伝子発現



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 1件)

(1) Tomomi Sano, Misaki Iwashita, Fusanori Nishimura, *et al.* Protection from diet-induced obesity and insulin resistance in mice lacking CCL19-CCR7 signaling. *Obesity (Silver Spring)*, 23 (7): 1460-1471, 2015.

[学会発表] (計 2件)

(1) 岩下未咲、佐野朋美、新城尊徳、箸方厚之、浅野知一郎、西村英紀：CCR7 経路が肥満およびインスリン抵抗性に及ぼす影響に関する検討
第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会、大阪国際会議場、大阪市、2014. 5. 22-24

(2) 佐野朋美、岩下未咲、山下明子、新城尊徳、箸方厚之、永安慎太郎、西村英紀：CCL19-CCR7 経路がエネルギー代謝に及ぼす影響に関する検討
第 58 回日本歯周病学会春季学術集会、幕張メッセ国際会議場、千葉市、2015. 5.15-16

6. 研究組織

研究代表者 岩下 未咲 (Iwashita Misaki)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：80611326