

平成 27 年 4 月 28 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500859

研究課題名(和文)メタボリックシンドローム発症における脾臓の役割

研究課題名(英文)A novel role for preventing the development of metabolic syndrome

研究代表者

後藤 孔郎 (GOTOH, KORO)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：10457624

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：高脂肪食により脾臓由来IL-10合成能が低下し、他臓器内炎症、異所性脂肪沈着さらには糖脂質代謝異常や高血圧が引き起こされることを明らかにした。このような変化は低脂肪食に変更することにより、脾臓からIL-10合成が回復し、それに伴い上記のような臓器障害が改善することも見出した。臨床的には、メタボリックシンドローム発症予防の1つに、摂取カロリーの是正が推奨されている。しかしながら、このような摂取カロリーの是正を効果的にするためには、脾臓由来IL-10合成能の保持が重要であり、今後、“脾臓機能”をメタボリックシンドロームの治療戦略に組み入れる必要があると考える。

研究成果の概要(英文)：High-fat diet (HFD) feeding induces the reduction of IL-10 synthesis from spleen and this decrease promotes inflammation and ectopic fat deposit in multiple organs, disorder of glucose and lipid metabolism, and hypertension. Moreover, switching to a low-fat diet (LFD) restores IL-10 synthesis in spleen and improved multiple organs damage induced by HFD feeding. Clinically, LFD feeding is recommended to prevent the development of metabolic syndrome. However, IL-10 synthesis ability derived from spleen is important to utilize switching from HFD to LFD1 feeding. Thus, "splenic function" might be necessary to consider the treatment strategy to metabolic syndrome.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：脾臓 IL-10 メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

肥満の進展によって肥大化した脂肪細胞に、マクロファージの浸潤や炎症性サイトカインの放出といった炎症性変化が誘導されることが知られている。さらに、炎症性サイトカインは、内臓脂肪細胞由来でインスリン感受性を亢進させるアディポネクチン発現の抑制や、肝臓や骨格筋のインスリン感受性低下をもたらす。一方、脾臓は白脾髄に存在する T 細胞領域に成熟 T 細胞が多く分布し、活性化した T 細胞から TNF- α 、IL-6 などが多く分泌される。事実、脾臓の摘出により、血中の TNF- α や IL-6 濃度が低下することが報告されている。

我々は、高脂肪食誘導性肥満モデル動物において、脾臓でのサイトカイン発現、特に抗炎症作用をもたらす IL-10 の低下、非肥満ラットにおいて、脾臓摘出による肝臓や内臓脂肪内マクロファージ浸潤の増加、血中アディポネクチン濃度の低下に伴うインスリン抵抗性の発現、脂肪肝の悪化、血圧上昇が出現することを明らかにした。

2. 研究の目的

メタボリックシンドローム (MetS) の本態は、余剰エネルギー貯留による内臓脂肪の過剰蓄積であり、それがインスリン抵抗性をはじめとする種々の生体機能の異常を誘導する。また、Mets あるいは心筋梗塞や脳梗塞といった動脈硬化性疾患の共通点として、全身性の慢性軽度炎症性変化がみられることが指摘されている。臨床的には、Mets 発症予防の1つに、摂取カロリーの是正が推奨されている。今回、高脂肪食誘導性肥満モデル動物を用いて、摂取カロリー是正による Mets 由来の全身性炎症性変化の改善に、サイトカイン産生調節に重要である脾臓がどのように関与しているかを解明し、Mets に対する食事療法のあり方について再検討する。

3. 研究の方法

今回我々は、摂取カロリー是正による MetS 由来の全身性炎症性病態の改善に、脾臓由来液性因子の1つである IL-10 の分泌能が強く関与していることを証明したいと考えている。具体的には、高脂肪食から通常食に変更することにより、脾臓由来のサイトカイン、特に IL-10 の発現が改善する、高脂肪食から低脂肪食への変更により肥満由来の各臓器の炎症性変化や糖脂質代謝および血圧を改善させるためには、脾臓の機能とくに脾臓由来の IL-10 分泌能が保たれていることが重要である、ということをも明らかにしたい。今回、“脾臓摘出”を脾臓の機能が保たれていないモデルケースとした。

[1]肥満モデル動物の作成:

雄野生マウスに高脂肪食を2ヶ月摂取させ、脾臓摘出(脾摘)群と非摘出(非脾摘)群に分ける。また各群を高脂肪食続行(高脂肪食)群と低脂肪食変更(変更食)群に分ける。従って非脾摘高脂肪食群、非脾摘変更食群、脾摘高脂肪食群、脾摘変更食群の4群を作成する。

[2]脾臓、肝臓、内臓脂肪の評価:

- 脾臓機能の1つであるフィルタリング作用を評価目的で、末梢血中の破碎赤血球を測定する。
- 腹部CTにより内臓脂肪や皮下脂肪の分布を検討する。肝臓および内臓脂肪内の中性脂肪やサイトカイン含有量および脾臓内のサイトカイン含有量を測定する。
- 肝臓、内臓脂肪のHE染色、オイルレッドO染色、マクロファージの臓器内浸潤を評価する。

[3]脾臓、腎臓の評価:

- ブドウ糖負荷試験やインスリン負荷試験により、インスリン抵抗性および感受性を評価する。
- 腎臓の PAS 染色で糸球体の面積やメサングウム細胞の増殖を評価、腎機能の評価として血中シスタチン C 濃度、腎臓内ネフリン蛋白発現を評価する。また各群の血圧を測定する。

[4] 肥満モデル IL-10 欠損マウスにおける各臓器の評価:

雄IL-10欠損マウスに高脂肪食を摂取させた後、[2]および[3]と同様の評価を行う。

4. 研究成果

a) 高脂肪食の摂取による脾臓への影響

まず、高脂肪食の摂取が脾臓にどのような変化をもたらすか検討を行った。高脂肪食摂取により、末梢血中の破碎赤血球の割合が増加していた。このことは、高脂肪食により、脾臓のフィルタリング作用が低下したことを意味している。また高脂肪食摂取により、IL-10の合成に大きく関与しているB細胞のマーカーであるCD20の脾臓内での発現が認められた(図1)。さらに高脂肪食により、脾臓IL-10のみならず炎症性サイトカイン[TNF- α 、IL-1、MCP-1]の発現が低下するが、末梢血ではIL-10濃度のみが低下した(図2)。このようなことは、血中IL-10濃度は、脾臓由来のものが大きく関与していることを推測させる。

CD20 staining

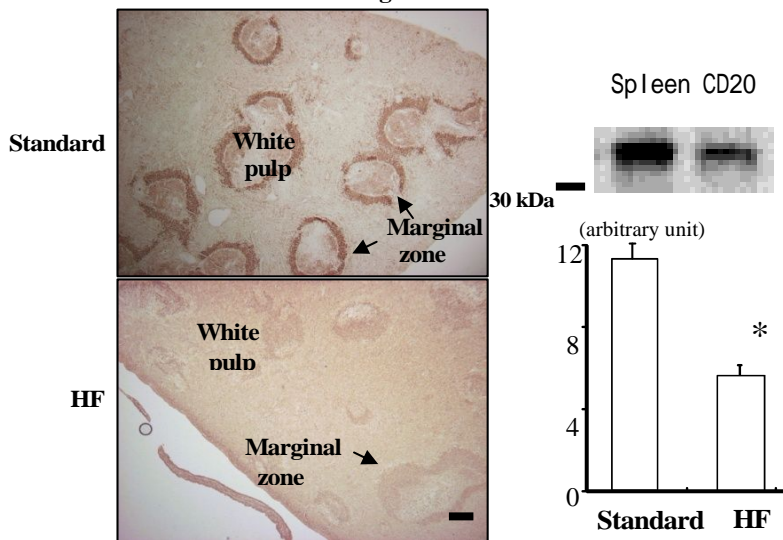
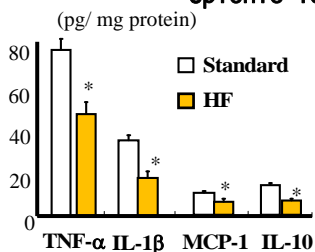


図1.

Splenic level



Serum level

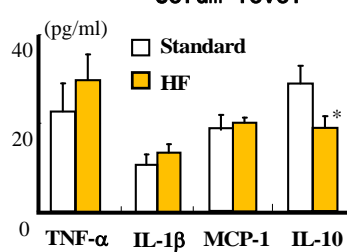


図2.

b) 脾臓摘出による生体への影響

これまでの結果から、脾臓からのIL-10合成能と肥満の間に関連性があることが示唆される。そこで脾臓を摘出すると、生体にどのような変化がみられるか検討した。脾臓摘出により、体重減少、血中中性脂肪、遊離脂肪酸濃度の高値、血中シスタチンC濃度の高値、さらには血圧上昇が認められた。脳内では、肥満による軽度の脾臓IL-10合成能の低下は、軽度な視床下部内炎症を引き起こし、摂食量の増加に伴う体重増加を助長するが、脾臓摘出による高度な脾臓IL-10合成能の低下は、高度な視床下部内炎症が起こり、摂食量の低下や体重減少をもたらされる。したがって、視床下部内の炎症の程度は、体重に関して二相性変化をもたらす。肝臓では体重減少を認めるにもかかわらず脂肪肝の増悪所見がみられ、肝臓内のマクロファージ浸潤を認める一方、内臓脂肪では、脂肪細胞が縮小するにも関わらず、肝臓と同様にマクロファージの浸潤所見が認められた。腹部CTでは脾臓摘出による内臓脂肪蓄積の低下がみられた。皮下脂肪には有意な変化がなかった。このような結果は、脂肪の蓄積と炎症反応は必ずしも一致しないということを示しており、非常に興味深い。腎臓については、血中シスタチンC濃度の高値、脾臓摘出により糸球体が肥大化およびメサンギウム細胞が増加し、糸球体の構築に重要なネフリン蛋白の発現が低下しており、尿細管領域でも炎症性変化が惹起され、異所性脂肪沈着が認められた。さらに脾臓についても、脾臓摘出により脾島や脾房領域で線維化が増悪し、脾外分泌領域を中心に異所性脂肪沈着が認められた。またブドウ糖負荷試験では、脾臓摘出はインスリン抵抗性を惹起させた。

c) 食事変更による生体の影響と脾臓との関係

高脂肪食から低脂肪食に変更することにより、脾臓内のB細胞発現や酸化ストレスは

改善し、IL-10 合成能改善した (図 3)。

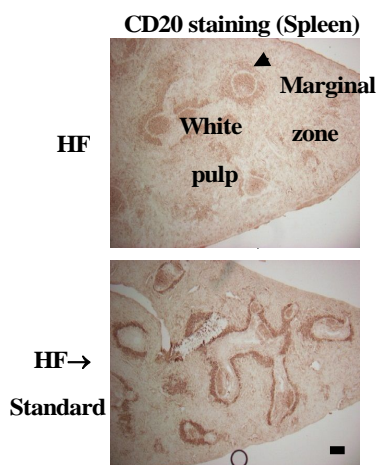
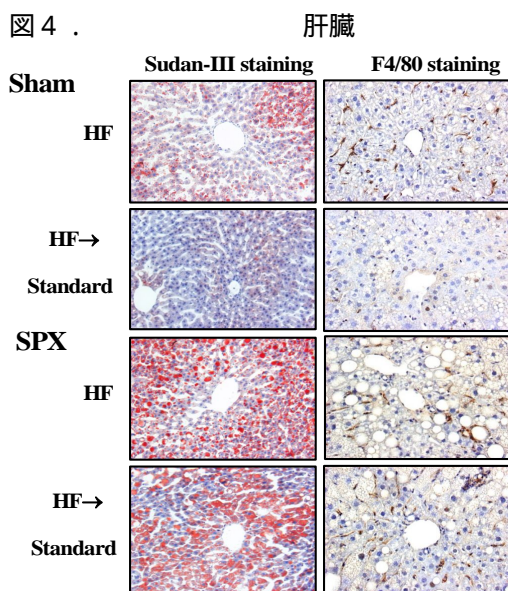


図 3 .

また、脾臓がある場合には他臓器病変は改善したが、脾臓が摘出された場合、食事変更による臓器への改善効果は認められなかった (図 4)。

図 4 .



d) 脾臓由来 IL-10 合成能の臨床的意義
 以上のことから、肥満によって脾臓由来 IL-10 が減少することが、MetS の表現型に影響を及ぼす可能性が示唆される。しかしながら、IL-10 は脾臓だけでなく、骨髄や他のリンパ節からも生成されている。したがって、脾臓由来 IL-10 の重要性を証明するために、IL-10 欠損マウスを用いた。IL-10 欠損マウスに脾臓摘出を行った場合、脂肪肝などの表

現型に変化がみられるかどうか検討を行った。まず、IL-10 欠損マウスの特徴として、野生マウスと比較して摂食量は低下しており成長が遅いことが知られている。また興味深いことに、IL-10 欠損マウスでは野生マウスと比べて脾臓が大きいことが認められているが、そのメカニズムなどの詳細は不明である。肝臓については、IL-10 欠損マウスに脾臓摘出を施行しても、野生マウスでみられた脂肪蓄積やマクロファージ浸潤の増悪所見はみられなかった。内臓脂肪についても、IL-10 欠損マウスでは脾臓を摘出しても脂肪蓄積や炎症所見に変化がみられなかった。さらに野生マウスでは脾臓摘出はインスリン抵抗性をもたらすが、IL-10 欠損マウスでは脾臓摘出してもインスリン抵抗性は惹起されなかった。また膵臓や腎臓に対しても検討したところ、脾臓由来 IL-10 の低下は膵臓や腎臓でも炎症反応の亢進をもたらすことが確認された。さらに IL-10 欠損マウスでは、肥満による臓器障害と脾臓の有無や、高脂肪食から低脂肪食への変更に関連性がないことが認められた。

以上のように、高脂肪食による脾臓由来 IL-10 の低下が、臓器内炎症、異所性脂肪沈着さらには糖脂質代謝異常や高血圧を引き起こし、このような変化は低脂肪食に変更することにより、脾臓から IL-10 合成が回復し、それに伴い上記のような臓器障害が改善することが推測された。臨床的には、MetS 発症予防の 1 つに、摂取カロリーの是正が推奨されている。しかしながら、このような摂取カロリーの是正を効果的にするためには、脾臓由来 IL-10 合成能の保持が重要であり、今後、“脾臓機能”を MetS の治療戦略に組み入れる必要があると考える。

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)

後藤 孔郎, 柴田 洋孝【臓器からみた糖尿病の病態と治療】脾臓・リンパ組織からみた糖尿病の病態と治療 2015, 7 巻 27-34.

〔学会発表〕(計 3 件)

後藤 孔郎, 正木 孝幸, 加隈 哲也, 柴田 洋孝 肥満に伴う非アルコール性脂肪性膵疾患(NAFPD)における脾臓由来 IL-10 の役割. 第 88 回日本内分泌学会総会 2015, 4.22-24.東京

後藤 孔郎, 正木 孝幸, 加隈 哲也, 柴田 洋孝 肥満に伴う非アルコール性脂肪性膵疾患(NAFPD)における脾臓由来 IL-10 の役割. 第 58 回日本糖尿病学会総会 2015, 5.21-23.山口

後藤 孔郎, 正木 孝幸, 加隈 哲也, 柴田 洋孝 肥満に伴う肝臓や内臓脂肪内の炎症性変化およびインスリン抵抗性における、脾臓由来 IL-10 の役割. 第 2 回肝臓と糖尿病・代謝研究会 2015, 5.23.山口

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 孔郎 (GOTOH KORO)
大分大学・医学部・助教
研究者番号：10457624

(2) 研究分担者

加隈 哲也 (KAKUMA TETSUYA)
大分大学・医学部・講師
研究者番号：80343359

正木孝幸 (MASAKI TAKAYUKI)
大分大学・医学部・助教
研究者番号：00423715

清家 正隆 (SEIKE MASATAKA)
大分大学・医学部・助教
研究者番号：40253794

千葉 政一 (CHIBA SEIICHI)
大分大学・医学部・助教
研究者番号：20457633

(3) 連携研究者

()

研究者番号：