

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658114

研究課題名(和文) 消化管内分泌系を介する慢性炎症発症回避の機構解明：免疫系細胞と脂肪細胞の連関

研究課題名(英文) Elucidation of mechanisms to avoid chronic inflammation via enteroendocrine system: relationships between immune cells and adipocytes

研究代表者

石塚 敏 (Ishizuka, Satoshi)

北海道大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00271627

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)：食事誘導性肥満において、脂肪組織やさまざまな臓器で慢性的な炎症が生じる。食事摂取後のリンパ管には脂質以外にも様々な食事由来抗原が流入し、これらの抗原に免疫系が応答すると考えられる。本研究ではリンパ管カニューレーション法を適用して、脂質吸収時にリンパ管に流入する因子を評価した。脂質吸収開始後数時間でinterleukin-6(IL-6)およびglucagon-like peptide-1濃度が投与前より有意に増加した。絶食時及び脂質食摂取時の消化管粘膜での遺伝子発現解析結果から、脂質の吸収に伴いIL-6産生細胞の粘膜への遊走が生じた可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Diet-induced obesity induces chronic inflammation. At postprandial period, various external antigens other than dietary lipids get into lymph ducts and evoke immune responses. In this study, we evaluated factors in lymph ducts by using lymph-cannulated rats especially at a postprandial period. At several hours after administration of dietary lipids, there was a significant increase of interleukin-6(IL-6) and glucagon-like peptide-1 in the lymph. Gene expression analysis in food-deprived or fed rats indicated that an accumulation of IL-6 producing cells in the intestinal mucosa accompanied by lipid absorption.

研究分野：食品栄養学

キーワード：chronic inflammation

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドローム発症には脂肪組織での慢性炎症の関与が知られている。過剰な遊離脂肪酸は炎症を惹起させることから、毎食後の脂質吸収の増加に伴い、脂肪組織は常に炎症が引き起こされるリスクにさらされていると言える。食事脂質は、脂肪酸が脂肪組織に到達するよりも前に、腸管上皮に散在する消化管内分泌細胞に認識され、消化管ホルモン分泌を促す。しかし、消化管ホルモンと脂肪組織、免疫系の関係については明らかにされていない。本研究では、栄養素摂取により分泌される消化管ホルモン(消化管内分泌系)が、日々の食事摂取により起こりうる不必要な炎症反応を抑えるかを検証し、そのメカニズムを解明することを目的とした。

2. 研究の目的

炎症発症の初発段階として、マクロファージが細菌の細胞壁由来成分等を認識するときに toll-like receptor (TLR)等がその受容体として重要であることが知られている。一方で、栄養成分の中でも、脂質由来の遊離脂肪酸は TLR を介してマクロファージを活性化させることが報告された[Nguyen et al. J Biol Chem, 2007]。このことは、日常摂取している栄養素が直接的に炎症を惹起しうることを示しており、食事を摂るごとに炎症が惹起されても不思議ではない。

また、脂肪組織における軽度で慢性的な炎症が、インスリン耐性を引き起こすことがメタボリックシンドローム発症の要因と考えられるようになった[Elks & Francis, Curr Hypertens Rep, 2010]。しかしながら、病態を発症する以前の状態では、日常の脂質摂取による炎症惹起が in vivo で問題にされることは殆どない。

消化管ホルモンの一つである glucagon-like peptide (GLP)-1 は、食品に存在する特定の糖、脂質、タンパク質により分泌が促進され、摂食や血糖値の調節に関与する[Donnelly, Br J Pharmacol, 2012]。GLP-1 受容体は脂肪細胞にも発現し、脂肪分解に関わることが報告されている。最近では、この受容体がマクロファージ等に分化する単球や血管内皮細胞に発現し、接着分子の発現抑制に関与することも報告された[Vendrell et al. Endocrinol, 2011]。

これらのことから、消化管内分泌系が、免疫系細胞や脂肪細胞における不必要な活性化を抑えることがひいては慢性炎症の発症抑制に寄与すると着想した。

3. 研究の方法

本実験では消化管免疫系細胞と食事性脂質の関与について調べた。リンパ管カニューレーションラットを用いて、脂質吸収時にリンパ管に流入する物質、つまり消化管関連の免疫系細胞が存在するリンパ節に流れ込む炎

症誘導および炎症抑制に関わる因子の評価を行った。実験には9~10週齢の Wistar-ST 雄性ラット(日本エスエルシー株式会社)を用いた。本研究は「国立大学法人北海道大学動物実験に関する規程」に基づいて実施した。ラットは1匹ずつステンレス製の網ケージに入れて飼育、12時間の明暗周期(明期8:00-20:00)で、室温 22 ± 1 、湿度 $55 \pm 5\%$ の環境に維持した。飼育期間中は飼料・飲用水ともに自由摂取させた。

リンパ管へのカテーテル留置法はこれまでの報告に基づいて実施した(n=3)[Nishimukai et al. Br J Nutr 2003, Arnold M. et al. Am J Physiol 2012]。

また、6日間の標準飼料(Dextrin ベース)馴化ののち、一晚絶食、当日朝に体重に差異が無いように絶食群(n=6)および飼料(20% lipid meal)再給餌群(n=6, 3時間給餌)の2群に分け、消化管粘膜に存在する IL-6 を ELISA 法で測定した。

4. 研究成果

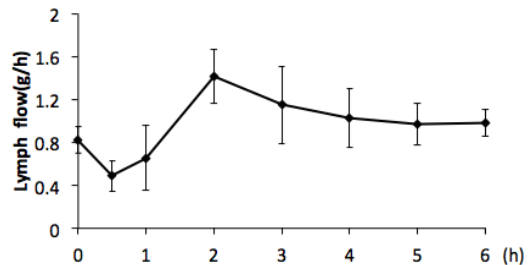


図1 脂質投与後のリンパ流速

大豆油エマルジョン投与直後より、リンパ流速が一過性に増加する傾向が観察された(図1)。また、投与開始1~2時間後にトリグリセリド(TG)放出速度が有意に上昇し(図2)その値は6時間ほど維持される傾向を示した。

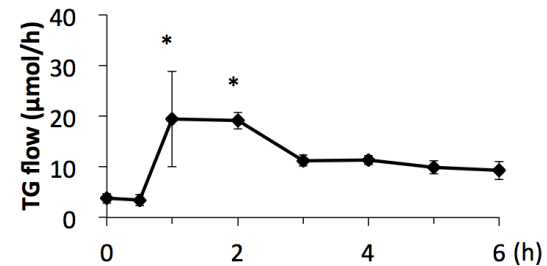


図2 脂質投与後のリンパ中 TG 放出速度

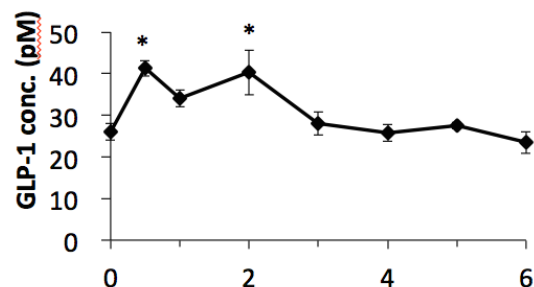


図3 脂質投与後のリンパ中 GLP-1 濃度

このことから、経腸に投与した脂質が吸収され、リンパ管に放出されていることが確認できた。またこのときのTG濃度の上昇に伴い、遊離脂肪酸 (NEFA) の放出速度も上昇した。

リンパ中の GLP-1 濃度は、投与後 30 分および 2 時間で有意に高い濃度を示した (図 3)。GLP-1 は血中だけでなくリンパ液中にも放出されることは既に報告されており [Lu et al. *Am J Physiol*, 2007]、本研究でもこの結果を確認した。また、胆汁酸が G タンパク共役型受容体 TGR5 を介して GLP-1 分泌に関与することが報告されている [Katsuma et al. *Biochem Res Commun* 2003]。投与した脂質だけでなく、脂質エマルジョンに含まれる胆汁酸であるタウロコール酸ナトリウムの両方が、リンパ液中の GLP-1 濃度増加に関与した可能性が考えられる。

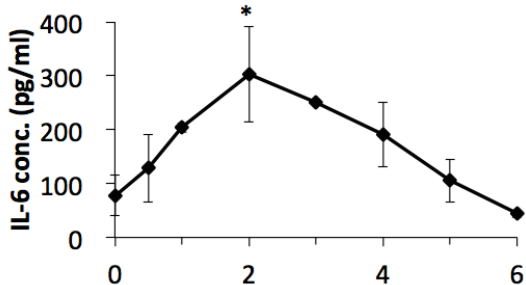


図 4 脂質投与後のリンパ中 IL-6 濃度

一方、リンパ液中の interleukin-6 (IL-6) 濃度については、投与後 2 時間で一過性の上昇が観察された (図 4)。

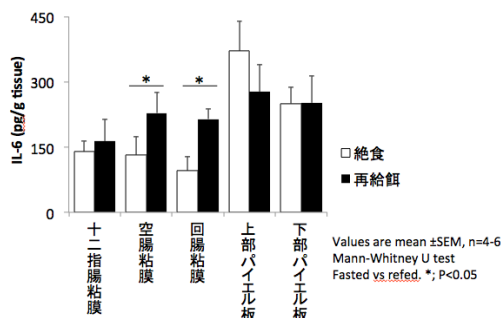


図 5 絶食・再給餌における消化管粘膜での IL-6 濃度

脂質投与数時間でリンパ液中の IL-6 濃度が上昇することから、消化管粘膜で既に作られた IL-6 がリンパ液に流れ込むことを想定して、絶食時および再給餌後の消化管粘膜における IL-6 濃度を評価した。その結果、再給餌後に空腸及び回腸粘膜での IL-6 濃度が有意に増加した (図 5)。この結果から、もとも消化管粘膜に存在していた IL-6 が脂質吸収に伴いリンパに流入したとは考えにくい。

極めて多様な細胞が IL-6 を産生するため、脂質投与後にリンパ液中で増加する IL-6 の由来を特定するのは困難である。しかし、3

時間以内という短時間で、遺伝子の転写・翻訳からタンパク質である IL-6 を産生し、リンパへ放出するまでが起こるとは考えにくい。むしろ、もともと腸粘膜に一定量産生される IL-6 に加え、脂質の刺激が粘膜中への IL-6 産生細胞の遊走を惹起した可能性を考えてもよい。IL-6 は、肥満やインスリン抵抗性に関して IL-6 が相反的な作用を併せ持つことを考慮すると、本実験で脂質吸収時に IL-6 が増加していた意義については、免疫系の応答に関する評価を加えたさらなる検討が必要である。

<引用文献>

Arnold M, Dai Y, Tso P, Langhans W. Meal-contingent intestinal lymph sampling from awake, unrestrained rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012, 15;302(12):R1365-71.

Donnelly D. The structure and function of the glucagon-like peptide-1 receptor and its ligands. *Br J Pharmacol*. 2012, 166(1):27-41.

Elks CM, Francis J. Central adiposity, systemic inflammation, and the metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2010, 12(2):99-104.

Katsuma S, Hirasawa A, Tsujimoto G. Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005, 329(1):386-90.

Lu WJ, Yang Q, Sun W, Woods SC, D'Alessio D, Tso P. The regulation of the lymphatic secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) by intestinal absorption of fat and carbohydrate. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007, 293(5):G963-71.

Nguyen MT, Faveyukis S, Nguyen AK, Reichart D, Scott PA, Jenn A, Liu-Bryan R, Glass CK, Neels JG, Olefsky JM. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *J Biol Chem*. 2007, 30;282(48):35279-92.

Nishimukai M, Hara H, Aoyama Y. Enteral administration of soybean lecithin enhanced lymphatic absorption of triacylglycerol in rats. *Br J Nutr*. 2003, 90(3):565-71.

Vendrell J, El Bekay R, Peral B,

García-Fuentes E, Megia A, Macías-Gonzalez M, Fernández Real J, Jimenez-Gomez Y, Escoté X, Pachón G, Simó R, Selva DM, Malagón MM, Tinahones FJ. Study of the potential association of adipose tissue GLP-1 receptor with obesity and insulin resistance. *Endocrinology*. 2011, 152(11):4072-9.

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 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

山岸 晋也、野勢 琢馬、菊地 慧大、清水 英寿、西向 めぐみ、原 博、石塚 敏: 腸管関連リンパ液採取法の検討と脂質吸収に伴う構成成分の経時的変化 第43回 日本栄養・食糧学会北海道支部会 2013.10.26 北海道大学(北海道・札幌)

山岸 晋也、菊地 慧大、藤井 暢之、原 博、石塚 敏: 長期コール酸摂取はラット腸間膜リンパ節でのサイトカイン産生を修飾する 日本栄養・食糧学会大会 2012.5.18-20 東北大学(宮城県・仙台市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

石塚 敏 (ISHIZUKA, Satoshi)
北海道大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 00271627

(2)研究分担者

(3)連携研究者

比良 徹 (HIRA, Tohru)
北海道大学・大学院農学研究院・講師
研究者番号: 10396301

(4)研究協力者