

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08870

研究課題名（和文）肥満の病態形成におけるコレステロールエステル加水分解酵素の役割の解明

研究課題名（英文）The role of NCEH1 in obesity

研究代表者

高橋 学（Takahashi, Manabu）

自治医科大学・医学部・客員研究員

研究者番号：70406122

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：中性コレステロールエステル(CE)水解酵素1(NCEH1)はマクロファージに豊富に発現し、脂肪滴として蓄積したCEを加水分解する酵素である。NCEH1の肥満における役割について検討を行った。NCEH1欠損マウス(NCEH1KO)に24週間高脂肪食負荷を行ったところ体重増加に差は認めなかった。一方でNCEH1KOマウスは性腺周囲脂肪が増加し、肝重量が減少した。さらにNCEH1KOマウスは血糖値や総コレステロールが低下した。さらなる検討が必要であるが、NCEH1は肥満の病態に関わっている可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満の病態形成において、マクロファージは重要な役割を担っている。そして、マクロファージの細胞内脂質代謝は炎症などの細胞機能に関わることが明らかになっている。本研究では、細胞内コレステロール代謝に関わるNCEH1の発現を調節することにより肥満病態における糖脂質代謝を制御する可能性が示唆され、意義のある成果と考えられる。

研究成果の概要（英文）：Neutral cholesterol ester hydrolase 1 (NCEH1), which is abundantly expressed in macrophages, mediates the hydrolysis of CE accumulated as a lipid droplet. To elucidate the role of NCEH1 in obesity, NCEH1 knockout (NCEH1KO) mice were fed a high-fat diet for 24 weeks. Both NCEH1KO and control mice gained weight at similar rates over the entire observation period. NCEH1KO perigonadal fat pads were heavier than those from male control mice, while liver weights were lighter in NCEH1KO compared with control mice. NCEH1KO mice had lower levels of fasting plasma glucose and total cholesterol than control mice. Although further investigation should be required to determine the role of NCEH1 in obesity, NCEH1 may be involved in the pathogenesis of obesity.

研究分野：脂質代謝

キーワード：肥満 マクロファージ NCEH1

1. 研究開始当初の背景

マクロファージはコレステロール等の脂質を蓄積して泡沫細胞となり、動脈硬化病変形成に重要な役割を果たしている。マクロファージに取り込まれたリポタンパクのコレステロールはアシル CoA コレステロールアシルトランスフェラーゼ 1 (ACAT1) によりコレステロールエステル (CE) となり細胞質内に脂肪滴 (lipid droplets; LDs) を蓄積する。CE は加水分解を受け、遊離コレステロールは ABC トランスポーター (ABCA1、ABCG1) によって細胞外に排出される。CE 水解にはマウスではホルモン感受性リパーゼ (HSL) と中性 CE 水解酵素 1 (NCEH1) とが同等に関与し、ヒトでは NCEH1 が中心的に関与する (Igarashi M, Takahashi M et al. *Circ Res.* 26;107:1387-95, 2010)。NCEH1 を全身性に欠損しても骨髄細胞特異的に欠損してもマクロファージ泡沫化促進により、マウスの動脈硬化病変が悪化する (Sekiya M, Takahashi M et al. *Cell Metab.* 10:219-28, 2009)。NCEH1 欠損により進展した動脈硬化病巣は、ACAT1 を二重に欠損させると改善する (Yamazaki H, Takahashi M et al. *J Atheroscler Thromb.* 26: 246-59, 2019)。このことは、泡沫細胞内の CE 蓄積を制御する酵素が動脈硬化の進展を規定しているというこれまでの仮説と一致する結果である。

一方、高脂肪食 (HFD) で飼育し形成された肥満 (DIO) では白色脂肪組織 (WAT) にマクロファージが動員され、adipose tissue macrophage (ATM) として WAT の慢性炎症や全身のインスリン抵抗性の形成に重要な役割を果たしている。NCEH1 欠損マウス (NCEH1KO) で ATM やインスリン抵抗性に変化が生じるか否かを確認するために、予備実験として NCEH1KO マウスを HFD で 16 週間飼育し DIO を作成した。その結果、野生型マウスと比較して、体重増加の有意な抑制が観察された (WT: 52.3 ± 4.1 g vs. NCEH1KO: 39.2 ± 3.0 g, N=4, $p < 0.001$)。また血清総コレステロール、トリグリセリドは低下し、肥満脂肪組織に浸潤するマクロファージにより構成される crown like structure (CLS) の減少も確認された。このことは、摂餌量の減少かエネルギー消費の亢進を示唆する。興味深いことに、NCEH1 と同様にマウスのマクロファージに発現し、CE 分解活性を有する HSL を欠損したマウスを HFD で飼育しても体重増加の有意な抑制が観察され (Harada K et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 285: E1182-95, 2003)、レプチンを欠損した肥満モデルマウスである ob/ob マウスに HSL 欠損を導入しても同様な体重増加の抑制が確認されている (Sekiya M et al. *J Biol Chem.* 279:15084-90, 2004)。これらに関連し、骨髄系細胞特異的にコレステロールのエステル化に関わる ACAT1 を欠損したマウスの DIO でも ATM の減少・耐糖能の改善・体重増加抑制が TY Chang らによって報告されている (Huang LH et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 315; E340-E356, 2018)。

2. 研究の目的

肥満病態において WAT に浸潤するマクロファージが、WAT の慢性炎症やインスリン抵抗性の形成に重要な役割を果たしている。これまでマクロファージのコレステロールのエステル化に関わる ACAT1 や CE 分解活性を有する HSL を制御することにより、体重増加が抑制されることが報告されている。本研究では HSL と同様に CE 分解活性を有する NCEH1KO マウスに肥満を誘導し、肥満症の病態形成における CE 加水分解酵素の役割について検討を行った。

3. 研究の方法

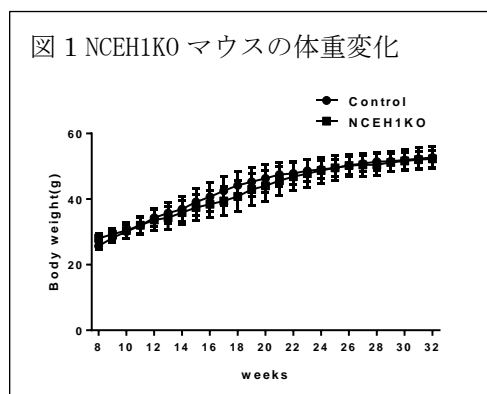
8 週齢の NCEH1KO マウスに 24 週間の高脂肪食負荷を行い肥満病態における NCEH1 の役割について検討を行った。また、肥満モデルマウスである ob/ob マウスと交配して作成した NCEH1 欠損 ob/ob マウスを作成し検討を行った。

4. 研究成果

(1) 食餌性肥満モデルにおける検討

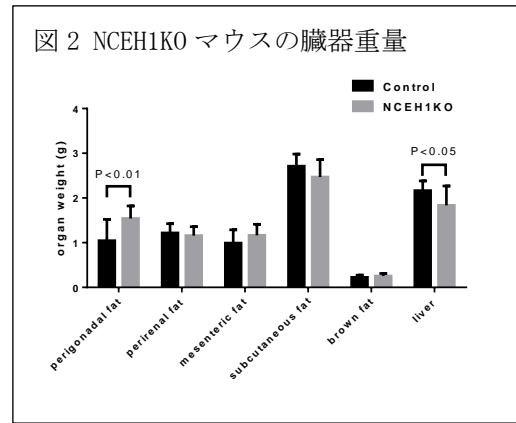
① 体重

8 週齢雄 NCEH1KO マウスに、食餌性肥満モデルとして高脂肪食負荷 (60%kcal%fat) を 24 週間行ったところ、対照の野生型マウスと比較して、体重増加に差はみられなかった (図 1) (n=9-12)。



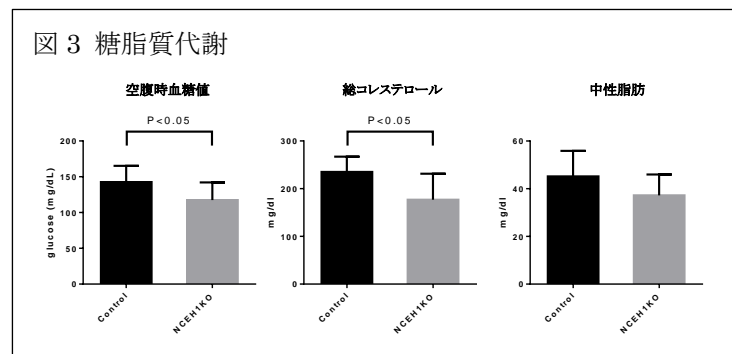
② 臓器重量

組織重量の評価では、性腺周囲脂肪は NCEH1KO で増加する一方で、肝重量は減少した (図 2) (n=9-12)。



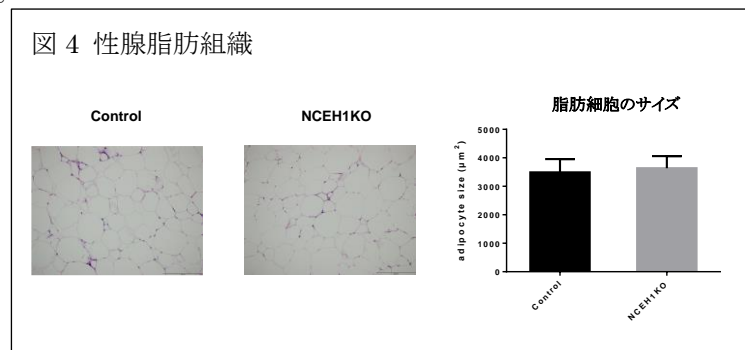
③ 糖代謝、脂質代謝

空腹時血糖値は、Control (143±8 mg/dl)、NCEH1KO (117±7 mg/dl)であり、Control に比して NCEH1KO で有意に血糖値が低下した (p<0.05)。血漿脂質について、総コレステロールは Control (235±11 mg/dl)、NCEH1KO (177±16 mg/dl)であり、Control に比して NCEH1KO で有意に総コレステロールが低下した (p<0.05)。一方トリグリセリドは Control (45±4 mg/dl)、NCEH1KO (37±3 mg/dl)であり、差はみられなかった (図 3) (p=0.08) (n=9-12)。



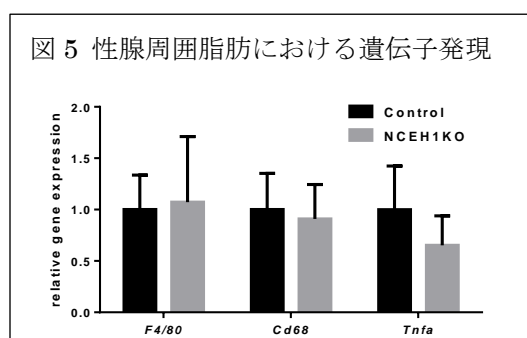
④ 白色脂肪組織の組織学的評価

性腺周囲脂肪組織の組織学的評価を行ったが脂肪細胞のサイズに差はみられず、形態に差はみられなかった (図 4) (n=5)。



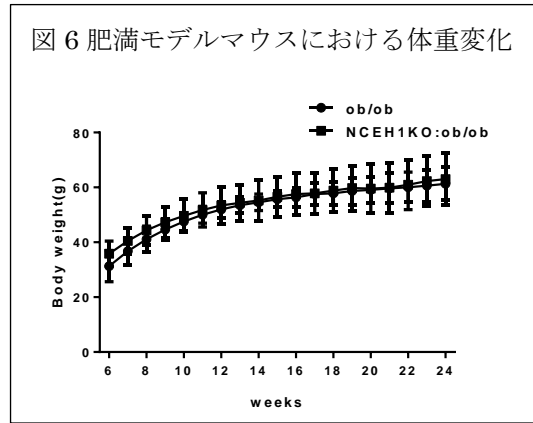
⑤ 白色脂肪組織における mRNA 発現の検討

マクロファージのマーカーである *F4/80*、*Cd68* の遺伝子発現の評価を行ったが、両群間に差はみられなかった。また炎症マーカーである *Tnfa* の評価を行ったが両群間に差はみられなかった (図 5) (n=5)。



(2) 肥満モデルマウスにおける検討

ob/obバックグラウンド雄のNCEH1KOマウスを24週間通常食で飼育し、体重変化を観察した。体重増加に差はみられなかった(図6)(n=6-7)。



(3) 結果のまとめ

野生型、NCEH1KOマウスの雄に高脂肪食を24週間負荷した検討では両群の体重増加に差はみられず、ob/obマウスのバックグラウンドにおいてもNCEH1欠損による体重増加に差はなかった。しかし、高脂肪食負荷後のNCEH1KOにおいて性腺周囲脂肪の重量が増加し、肝重量が減少した。また、高脂肪食負荷後のNCEH1KOにおいて血糖値および総コレステロールが低下した。更なる検討が必要であるが、NCEH1は肥満病態形成へ関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------