

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	病態制御領域 感染生体防御学教育研究分野 氏名 廣瀬昌平
<p>(論文題目)</p> <p>Attenuation of obesity-induced inflammation in mice orally administered with salmon cartilage proteoglycan, a prophylactic agent (サケ鼻軟骨抽出プロテオグリカンの経口投与は肥満由来の炎症を軽減する)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>【背景・目的】</p> <p>近年、高カロリー食の浸透により肥満者が増加している。肥満者の脂肪組織は慢性炎症状態であり、インスリン抵抗性が亢進して2型糖尿病が誘発される。脂肪組織内の炎症では脂肪組織マクロファージが重要な役割を示す。マクロファージは古典的に炎症を惹起する M1 マクロファージと炎症を抑制する M2 マクロファージの2種類に分類される。肥満の脂肪細胞では M1 マクロファージが浸潤し TNF-α を始めとする炎症性サイトカインを産生することで慢性炎症状態となる。</p> <p>プロテオグリカンはコアタンパク質の周囲に複数のグリコサミノグリカンが結合した巨大糖タンパク質である。プロテオグリカンはコラーゲン線維、フィブロネクチン、ラミニンおよびヒアルロン酸とともに関節、皮膚、骨および軟骨の細胞外マトリクスを構成する主成分の一つである。当該研究室ではこれまでにサケ鼻軟骨抽出プロテオグリカン (PG) に熱処理大腸菌が誘導する炎症反応を抑制する効果を持つことを明らかにしている。さらに PG の経口投与は炎症性腸疾患、実験的脳脊髄炎およびコラーゲン誘導性関節炎の症状を抑制することも明らかにした。以上より、PG は経口投与による抗炎症作用が有効であると考えられる。そこで、本研究では PG が肥満・2型糖尿病に対する予防効果を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>本研究では C57BL/6J マウスに高脂肪食 (HFD) を給餌して作製する肥満・2型糖尿病モデルを用いた。まず、HFD 給餌と同時に蒸留水に溶解した PG を自由飲水投与し 16 週間飼養した。対照群には蒸留水を投与した。その間、隔週に体重を測定した。給餌 16 週後に脂肪組織重量および肝臓重量を測定し、脂肪細胞の断面積を解析した。続いて、脂肪組織における炎症性サイトカイン・ケモカインの遺伝子発現を定量的逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応法により解析した。また、HFD 給餌 8 週に脂肪組織における M1、M2 マクロファージの比率をフローサイトメトリーにて解析した。F4/80+CD11c+細胞を M1 マクロファージ、F4/80+CD206+細胞を M2 マクロファージとした。さらに、炎症持続で数が増加する M1 マクロファージの集合体である Crown like structure (CLS) の数を免疫蛍光染色により解析した。次に、HFD 給餌 8 週において肝臓および骨格筋における Akt タンパク質のリン酸化をウェスタンブロッティングにより解析した。Akt タンパク質のリン酸化はインスリン受容シグナルにおいて重要な経路の一つである。加えて、HFD 給餌 12 週において絶食時血清中インスリン濃度を測定し、HFD 給餌 14 週において腹腔内糖負荷による耐糖能試験を行った。</p> <p>【結果】</p> <p>PG 投与により体重および組織重量変化は認められなかったが、脂肪細胞の肥大化が抑制された。脂肪組織中の炎症性サイトカイン発現解析の結果、HFD 給餌 4 週では TNF-α が、HFD 給餌 8 週目では TNF-α に加えて IL-6 および CXCL2 の発現が PG 投与群で</p>	

有意に抑制された。脂肪組織中のマクロファージ解析の結果、PG 投与群で M1 マクロファージの割合が有意に減少し、CLS の数も有意に減少した。M2 マクロファージの比率に変化は認められなかった。PG 投与群では Akt タンパク質のリン酸化が有意に亢進した。さらに、PG 投与群では血清中インスリン濃度が通常食給餌群と同程度まで低下した。耐糖能試験の結果、PG 投与群では糖負荷後の血糖値上昇が有意に抑制された。

【考察】

肥満および 2 型糖尿病は慢性炎症状態である。当該研究室はこれまで PG の抗炎症作用を様々な動物モデルを用いて明らかにしてきた。本研究では PG 投与が脂肪組織における炎症性サイトカインの発現を抑制し M1 マクロファージの数を減少させることで、肥満による炎症を制御することが示唆された。また、PG 投与群の肝臓や骨格筋において Akt のリン酸化が亢進され、絶食時血清中インスリン濃度および糖負荷後の血糖値上昇が抑制されたことから、PG は脂肪組織の炎症抑制を介してインスリン感受性および耐糖能を改善することが示唆された。本研究より、PG の経口摂取が肥満・2 型糖尿病の症状を予防・改善する可能性が示された。