

報告番号	甲栄 第 210 号
論 文 内 容 要 旨	
氏 名	安倍 知紀
題 目	Cbl-b Is a Critical Regulator of Macrophage Activation Associated With Obesity-Induced Insulin Resistance in Mice (Cbl-bは、マウスにおいて肥満によるインスリン抵抗性を引き起こすマクロファージ活性化の重要な調節因子である。)
<p>肥満は、大きな健康問題の一つとして注目されている。肥満は、各臓器にインスリン抵抗性を誘導し、やがて全身性の糖尿病、動脈硬化や脳・心血管疾患などの様々な疾患の原因となる。最近、肥満では脂肪組織における軽度な慢性炎症反応が、具体的には、肥大化した脂肪組織にマクロファージが浸潤し活性化することが、インスリン抵抗性発症に重要な役割を果たすことがわかってきた。従って、脂肪組織における活性化したマクロファージは、肥満によるインスリン抵抗性の治療標的となりうる。しかしながら、脂肪組織に浸潤したマクロファージの活性化機構はほとんどわかっていない。本研究では、マクロファージの活性化に関与するユビキチンリガーゼCbl-bのノックアウトマウスを用い、脂肪酸によるマクロファージの活性化メカニズムを解析した。</p> <p>最初にCbl-b遺伝子欠損 (Cbl-b<sup>-/-</sup>) マウスおよび野生型 (Cbl-b<sup>+/+</sup>) マウスに高脂肪食を5週間摂取させ食事性肥満を誘導した。高脂肪食を摂取したCbl-b<sup>-/-</sup>マウスは、同じ高脂肪食を摂取したCbl-b<sup>+/+</sup>マウスに比べ顕著な体重増加と血中脂質濃度の増大を呈した。さらに、高脂肪食を摂取したCbl-b<sup>-/-</sup>マウスは、Cbl-b<sup>+/+</sup>マウスに比べ浸潤マクロファージ数が有意に増大することが分かった。浸潤マクロファージ数の増加に比例して、Cbl-b<sup>-/-</sup>マウスでは脂肪組織における炎症の増悪と全身性のインスリン抵抗性を引き起こすこともわかった。</p> <p>次に、飽和脂肪酸はTLR4シグナル経路を介してマクロファージの活性化を引き起こすことが報告されているので、Cbl-bはTLR4を標的とすることでマクロファージの活性化を抑制するのではないかと考え、マウス由来腹腔マクロファージおよびRAW264.7細胞株を用いた</p>	

実験を行った。飽和脂肪酸添加はTLR4を介して野生型マクロファージからの炎症性サイトカインIL-6の発現を増大させた。興味深いことに、Cbl-b遺伝子欠損は飽和脂肪酸によるマクロファージからのIL-6発現をさらに亢進するとともに、TLR4シグナル伝達経路のI $\kappa$ B $\alpha$ およびJNKの活性化もより増大させた。一方、Cbl-bを強発現させたRAW264.7細胞では、飽和脂肪酸刺激によるIL-6の発現増大、I $\kappa$ B $\alpha$ とJNKのリン酸化は有意に抑制された。さらに、マクロファージやHEK293細胞株を用いた構成実験では、Cbl-bは飽和脂肪酸刺激後にTLR4をユビキチン化し、プロテアソーム依存的な分解を亢進していることを明らかにした。以上の結果は、Cbl-bはマクロファージのTLR4の分解を亢進し、飽和脂肪酸によるTLR4シグナル伝達を負に調節していることを示唆した。

最後に、*in vivo*においてCbl-bによるマクロファージ活性化制御の重要性を明らかにするために、Cbl-b<sup>-/-</sup>マウスを用いた骨髄移植実験およびTLR4アンタゴニストであるEritoranの投与実験を行った。骨髄移植実験により、骨髄細胞特異的Cbl-b遺伝子欠損は高脂肪食による脂肪組織の慢性炎症を増悪し、インスリン抵抗性を惹起することを示した。また、

Eritoranの投与は、高脂肪食によるCbl-b<sup>-/-</sup>マウスの糖尿病症状および炎症反応を改善した。以上のことより、脂肪酸によるマクロファージの活性化が肥満によるインスリン抵抗性発症治療において重要なステップであることと、脂肪酸の受容体であるTLR4及びそのシグナル経路が、インスリン抵抗性に対する分子標的となりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨	
報告番号	甲栄第 210 号 氏名 安倍 知紀
審査委員	主査 宮本 賢一 教授 副査 田中 栄二 教授 副査 阪上 浩 准教授
題目	Cbl-b Is a Critical Regulator of Macrophage Activation Associated With Obesity-Induced Insulin Resistance in Mice. (Cbl-bは、マウスにおいて肥満によるインスリン抵抗性を引き起こすマクロファージ活性化の重要な調節因子である。)
著者	Tomoki Abe, Katsuya Hirasaka, Sachiko Kagawa, Shohei Kohno, Arisa Ochi, Kenro Utsunomiya, Atsuko Sakai, Ayako Ohno, Shigetada Teshima-Kondo, Yuushi Okumura, Motoko Oarada, Yoichi Maekawa, Junji Terao, Edward M. Mills, Takeshi Nikawa
	2013年6月発行 Diabetes誌第62巻第6号1957~1969ページに発表済 (主任教授 二川 健)
要旨	<p>肥満は、インスリン抵抗性の発症を介して2型糖尿病をはじめとする生活習慣病を引き起こす。近年、肥満により脂肪組織へと浸潤し活性化したマクロファージは、炎症反応を介して全身性にインスリン抵抗性を惹起することが明らかとなってきた。このことより、脂肪組織浸潤マクロファージがインスリン抵抗性の治療標的となることが考えられる。しかしながら、脂肪組織におけるマクロファージ活性化の分子機構についてはほとんどわかっていない。</p> <p>そこで申請者は、ユビキチンリガーゼcasitas B-cell lymphoma-b (Cbl-b)のノックアウトマウスに高脂肪食を摂取させることで食事性肥満を誘導し、飽和脂肪酸によるマクロファージ活性化におけるCbl-bの生理的意義について解析を行った。</p> <p>得られた結果は以下のとおりである。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Cbl-b遺伝子欠損 (Cbl-b<sup>-/-</sup>) マウスでは、野生型 (Cbl-b<sup>+/+</sup>) マウスに比べて、高脂肪食摂取による体重増加、脂肪組織での炎症反応と全身性のインスリン抵抗性が増悪していた。</li> <li>2) Cbl-b<sup>-/-</sup>マウス由来腹腔マクロファージとCbl-b強発現RAW264.7細胞株を用いた実験により、Cbl-bは飽和脂肪酸によるtoll-like receptor-4 (TLR4)の活性化を負に調節することで、炎症性サイトカインの発現を抑制することが明らかとなった。</li> <li>3) マクロファージに飽和脂肪酸刺激を加えると、Cbl-bはTLR4をユビキチン化することにより、プロテアソーム依存的な分解を亢進した。</li> </ol>

- 4) 骨髄細胞特異的Cbl-b遺伝子欠損は、脂肪組織の肥大化を伴わずに高脂肪食摂取による脂肪組織へのマクロファージ浸潤を増大し、インスリン抵抗性を惹起した。
- 5) TLR4アンタゴニストの投与は、高脂肪食によるCbl-b<sup>-/-</sup>マウスの糖尿病症状および脂肪組織の炎症反応を改善した。

以上の結果より、Cbl-bは飽和脂肪酸によるマクロファージの活性化を負に調節することと、飽和脂肪酸の受容体であるTLR4及びそのシグナル伝達経路が、インスリン抵抗性に対する分子標的となりうることが示唆された。

本研究は、飽和脂肪酸によるマクロファージ活性化機構の解明と、肥満によるインスリン抵抗性に対する新たな治療法開発に貢献するもので博士（栄養学）の学位授与に値すると判定した。