



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	プロテアソーム機能低下が白色脂肪組織慢性炎症に与える影響 [全文の要約]
Author(s)	仲川, 心平
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2669 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14968号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86054
Type	doctoral thesis
File Information	NAKAGAWA_Shimpei_summary.pdf



学 位 論 文（要約）

プロテアソーム機能低下が 白色脂肪組織慢性炎症に与える影響

(Decreased proteasomal function exacerbates obese-related
chronic inflammation in adipose tissue)

2022 年 3 月

北 海 道 大 学

仲 川 心 平

学 位 論 文（要約）

プロテアソーム機能低下が 白色脂肪組織慢性炎症に与える影響

(Decreased proteasomal function exacerbates obese-related
chronic inflammation in adipose tissue)

2022 年 3 月

北 海 道 大 学

仲 川 心 平

要旨

【背景と目的】

加齢による慢性炎症（inflammaging）はメタボリックシンドローム（MetS）を含む老化関連疾患の基盤的病態として注目されている。肥満患者では、白色脂肪組織（WAT）において低レベルの慢性炎症が見られ、WAT からのアディポサイトカイン分泌異常が慢性炎症に関連すると考えられている。加齢に伴う肥満では、WAT の炎症が増悪することが報告されているが、その分子メカニズムは十分に解明されていない。ユビキチン-プロテアソーム系は、損傷を受けたタンパク質や、misfolded protein などの異常タンパク質の分解を担う主要なタンパク質分解経路であり、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。プロテアソームは、損傷を受けたタンパク質や、misfolded protein などの異常タンパク質の分解を担うタンパク質分解酵素複合体であり、加齢によりプロテアソームの機能低下を認めること、加齢に伴う活性低下が老化関連疾患に関与することが報告されている。本研究では、Tg 及び未処理の 3T3-L1 細胞から分化誘導した脂肪細胞様 3T3-L 脂肪細胞を用い、プロテアソーム機能低下による脂肪細胞の細胞老化と WAT の炎症誘導の関連性について検討した。

【材料と方法】

プロテアソーム機能低下マウスとして、酵素活性の低い $\beta 5t$ を全身発現するトランスジェニックマウス（ $\beta 5t$ transgenic mouse; Tg）を実験に使用した。小胞体（endoplasmic reticulum; ER）ストレスの検出には ER ストレス可視化マウス（ERAI-Luc; 以下 ERAI として表記）、及び本マウスと Tg の交配による ERAI/Tg を使用した。コントロールには野生型 C57BL/6 マウス（wild type; WT）を用いた。6 週齢雄あるいは老齢 WT マウス（aged-WT）として 60 週齢雄マウスを用い、16 週間にわたり通常食（Control Diet; CD）あるいは高脂肪食（High Fat Diet; HFD）を投与した。代表的な内臓白色脂肪として精巣上体周囲脂肪組織（epididymal white adipose tissue; eWAT）を採取し、解析に用いた。組織学的解析では Crown-like structure（CLS）数、CLS 形成に関わる脂肪内マクロファージの検討を行った。ER ストレスの検出にはルシフェリン発光量を IVIS® Spectrum CT で測定した。また、3T3-L1 細胞から分化誘導した脂肪細胞様 3T3-L1 細胞を用い、パルミチン酸（palmitic acid; PA）負荷による肥大化、プロテアソーム阻害剤である MG132 負荷を行った。マウス eWAT、脂肪細胞様 3T3-L1 脂肪細胞より total RNA、タンパク質溶解液を抽出し、アディポサイトカイン、ER ストレス関連分子の変化について検討した。

【結果】

HFD 投与により Tg では WT に比較して、有意な体重増加、eWAT 増加を認め、WAT 炎症の指標である CLS 数が有意に増加した。HFD 投与による CLS 増加は老齢 WT マウスにおいても観察された。CLS 数の

増加に伴い、Tg では炎症誘導に働く M1 様 CD11c⁺ マクロファージ増加を認め、CLS 部位により多くの CD11c⁺ マクロファージ浸潤を認めた。HFD 投与 Tg の eWAT では monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), tumor necrosis factor- α (TNF- α) などの炎症性アディポサイトカインの発現が増加し、抗炎症性サイトカインであるアディポネクチンが有意に低下していた。また、HFD 投与により、WT 及び Tg のいずれも eWAT における ER ストレスが増加したが、Tg では WT よりも強い ER ストレス誘導を認めた。3T3-L1 細胞から分化誘導した脂肪細胞様 3T3-L1 細胞を用いた検討では、MG132 負荷により ER ストレス関連分子である Bip, ATF6, p-JNK 発現亢進を認めた。また、MG132 負荷をした脂肪細胞様 3T3-L1 細胞では炎症性アディポサイトカインである MCP-1, PAI-1 の発現増加、抗炎症性アディポサイトカインであるアディポネクチンの発現低下を認めた。

【考察】

本研究では、プロテアソーム機能低下による老化マウスモデルを用い、プロテアソーム機能低下が脂肪細胞の細胞老化を誘導し、脂肪組織の慢性炎症増悪に関与することを明らかにした。老化細胞は細胞老化関連分泌形質 (Senescence-Associated Secretory Phenotype; SASP) を示し、炎症性サイトカインなどの炎症関連遺伝子の発現を介して、炎症誘導に働くことが知られている。脂肪組織においても、老化細胞の増加が低レベルの慢性炎症に関与し、インスリン抵抗性、糖尿病など代謝異常のリスクを高める要因となることが報告されている。細胞老化は環境因子や代謝等の内的要因による細胞ストレスにより誘導されるが、肥満自体も脂肪細胞の細胞老化に寄与することが知られている。本研究では加齢によるプロテアソーム機能低下を模倣したマウスモデルを用いることで、加齢時にはプロテアソーム活性の低下が ER ストレスを介し肥満 WAT の炎症をさらに増悪させる可能性を示した。

HFD を投与したプロテアソーム機能低下マウスでは脂肪組織における CLS 数の増加、マクロファージの M1 分極を認め、MCP-1 の発現上昇を伴っていた。肥大化させた脂肪細胞様 3T3-L1 脂肪細胞では、MG132 負荷によりアディポサイトカインの発現異常を認めた。肥満脂肪組織では、MCP-1, PAI-1, TNF- α などの炎症性アディポサイトカインが増加し、抗炎症性アディポサイトカインであるアディポネクチンが減少することが炎症誘導に関与すると考えられている。MCP-1 や PAI-1 は M1 極性の亢進にも寄与することが報告されている。本研究では、プロテアソーム機能不全が、MCP-1 などの炎症性アディポサイトカインの分泌を促進し、脂肪組織における炎症環境を誘導することが示された。

加齢に伴ってプロテアソーム機能が低下する現象は多くの臓器で認められ、脂肪組織でもプロテアソーム活性が低下することが報告されている。本研究では、プロテアソームの機能低下が WAT の ER ストレスを増大させることを明らかにした。ER はプロテアソームと共にタンパク質の恒常性維持に重要な働きを有している。しかしながら、加齢によりプロテアソーム機能が低下した状態に、肥満による細胞ストレスが付加されることで、過剰な ER ストレスに繋がり、炎症を誘導すると考えられる。ER ストレスは複数の経路を介して炎症に寄与し、ER ストレス経路を介する c-Jun N-terminal kinase (JNK)

の活性化は、insulin receptor substrate-1 (IRS-1) のセリン残基のリン酸化によって、直接的にインスリン抵抗性を促進することも報告されている。

プロテアソーム機能が加齢により減弱するメカニズムは十分に解明されていない。プロテアソームをターゲットとした薬剤開発としては、阻害剤の開発が進んでおり、ボルテゾミブ (BTZ) を代表とする薬剤が臨床応用されている。しかしながら、プロテアソームを活性化させる薬剤の開発は十分に進んでいない。そのため、脂肪細胞の細胞老化、肥満による慢性炎症の抑制、メタボリック症候群を含む WAT 慢性炎症を背景とする疾病の予防や治療には、ER ストレス-炎症カスケードを改善する薬剤の応用が期待される。プロテアソーム機能自体を改善する薬剤は現段階では開発途上であり、加齢による WAT の炎症を予防、改善には ER ストレス経路をターゲットとした薬剤が有力な候補として挙げられる。脂肪組織において、化学シャペロン 4-PBA (4-phenylbutyric acid) や TUDCA (tauroursodeoxycholic acid) が、ER ストレスおよびそれに伴う炎症性サイトカインの誘導を抑制することが報告されている (Kawasaki et al. 2012) (Chen et al. 2016)。現在、4-PBA は尿素サイクル異常症 (UCD) の治療に使用されており、TUDCA はイタリアなどで肝障害や胆石症の治療として用いられていることから安全性は確立されており、高齢者の MetS における臨床応用に向けて多数例での解析が期待される。

【結論および総括】

本研究では、プロテアソーム機能低下は脂肪細胞の細胞老化を誘導し、肥満による慢性炎症の増悪に関わることを明らかにした。プロテアソーム機能低下は細胞ストレスを増大させ、SASP 病態を修飾していると推定される。今後は、プロテアソームの機能低下による細胞老化の分子メカニズム、酸化ストレス経路を含む多様な細胞ストレス経路が SASP に与える影響、インスリン抵抗性に関わる病態を明らかにしていくことで、加齢とメタボリック症候群の病態を多角的に検討する必要があると考えられる。