

## 審査の結果の要旨

氏名 仁尾 泰徳

本研究はサイトカイン **Monocyte chemo attractant protein (MCP)-1** の全身へのインスリン抵抗性と脂肪肝、脂肪萎縮症に対する影響を詳細に解析するため、脂肪萎縮性糖尿病モデル **A-ZIP transgenic (Tg)** マウスに **MCP-1** 欠損マウスを掛け合わせて **MCP-1** 欠損 **A-ZIP-Tg** マウスを作成し、脂肪組織が殆どない脂肪萎縮性糖尿病病態における **MCP-1** 欠損のマクロファージの集積・形質変化や脂肪肝、インスリン抵抗性改善メカニズムの解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 脂肪萎縮性糖尿病モデル **A-ZIP-Tg** マウスでは顕著な高血糖、高インスリン血症、高脂血症、肝肥大、脂肪肝、インスリン感受性の低下が認められ、血漿中の **MCP-1** の増加と肝臓での **MCP-1** の特異的な発現上昇が認められた。**MCP-1** 欠損 **A-ZIP-Tg** マウスでは高血糖、高インスリン血症、高脂血症、肝肥大、脂肪肝、インスリン感受性の改善が認められた。
2. 肥満状態になると肥大した脂肪組織から **MCP-1** の分泌が上昇し、脂肪組織へのマクロファージ浸潤が増加して全身でのインスリン抵抗性が惹起される。**A-ZIP-Tg** マウスでは肝臓で **MCP-1** 遺伝子発現の特異的な上昇が認められたことからマクロファージ浸潤遺伝子の発現解析を行ったところ、野生型マウスに比べて **A-ZIP-Tg** マウスの肝臓ではマクロファージ浸潤に関連する遺伝子 **Emr-1(F4/80)** や **CD68 mRNA** の顕著な上昇が認められたが、**MCP-1** 欠損 **A-ZIP-Tg** マウスでは **A-ZIP-Tg** マウスに比して **Emr-1(F4/80)** や **CD68 mRNA** の発現低下は認められなかった。
3. マクロファージには炎症惹起型の **M1** タイプと抗炎症型の **M2** タイプの2種類のフェノタイプの存在が報告されており、**MCP-1** 欠損 **A-ZIP-Tg** マウスでは **A-ZIP-Tg** マウスに比して肝臓では **M2** マクロファージ遺伝子マーカーである **Chitinase 3-like 3 (Chi3l3)**、**Transforming growth factor (TGF)-beta**、**Arginase (Arg)-1 mRNA** の発現増加が認められたことから、**MCP-1** 欠損 **A-ZIP-Tg** マウスでは **A-ZIP-Tg** マウスに比して抗炎症型 **M2** マクロファージの増加が示された。
4. **MCP-1** 欠損 **A-ZIP-Tg** マウスでは **A-ZIP-Tg** マウスに比して脂肪肝の改善が認められたことから、肝臓での脂質代謝遺伝子発現解析を行ったところ、脂質合成に関与する遺伝子変化は認められなかったが、脂肪酸燃焼に関与する **PPAR-alpha**、**UCP-2** 遺伝子の上昇が **MCP-1** 欠損 **A-ZIP-Tg** マウスでは **A-ZIP-Tg** マウスに比して認められ、肝臓における脂肪酸燃焼の増加が示唆された。

5. MCP-1 欠損 A-ZIP-Tg マウスのインスリン抵抗性改善メカニズムを解明するため、肝臓におけるウェスタンブロッティング解析を実施した結果、A-ZIP-Tg マウスの肝臓では野生型マウスに比して ERK-1,2 と p38 MAPK タンパク質の顕著なリン酸化が認められたが、MCP-1 欠損 A-ZIP-Tg マウスではそのリン酸化が抑制されていることが示された。
6. ERK-1,2 のリン酸化は IRS-1 の 612 番目のアミノ酸残基をセリンリン酸化してインスリン抵抗性惹起に寄与する。MCP-1 欠損 A-ZIP-Tg マウスでは A-ZIP-Tg マウスに比してこの IRS-1 の 612 番目のアミノ酸残基のセリンリン酸化が抑制されており、インスリン感受性改善に関連する IR- $\beta$  や Akt のリン酸化上昇が認められた。MCP-1 欠損 A-ZIP-Tg マウスでは ERK-1,2 と p38 MAPK タンパク質のリン酸化抑制を介した肝臓でのインスリン抵抗性改善メカニズムが示された。
7. A-ZIP-Tg マウスでは骨格筋で MCP-1 の mRNA 発現上昇が認められなかったが、グルコースクランプ試験を施行したところ骨格筋での糖利用の改善(glucose infusion rate; GIR の上昇)と骨格筋でのインスリンシグナルである IR- $\beta$  と Akt のリン酸化上昇が認められたことから、A-ZIP-Tg マウスにおける MCP-1 の欠損による間接的な骨格筋におけるインスリン改善効果が示された。
8. MCP-1 は動脈硬化を増悪させることが報告されており、ApoE 欠損マウスで惹起される動脈硬化が MCP-1 を欠損させると回復することが報告されている。そこで A-ZIP-Tg マウスで人為的に血管にカフを留置して動脈硬化を誘導すると顕著な動脈硬化層(Neo-intimal formation)が形成されたが、MCP-1 欠損 A-ZIP-Tg マウスではこのカフ留置後の動脈硬化層が抑制され、A-ZIP-Tg マウスにおける MCP-1 の欠損は動脈硬化も抑制することが示された。

以上、本論文は脂肪萎縮性糖尿病モデル A-ZIP-Tg マウスにおいて MCP-1 を抑制することで肝臓におけるマクロファージの形質転換や ERK-1,2 のリン酸化抑制、脂肪酸酸化亢進を介して全身のインスリン抵抗性と脂肪肝、動脈硬化を改善することを詳細な分子シグナル、遺伝子発現解析をおこなって初めて示されたものである。また、これまで肥満病態で脂肪組織から分泌される MCP-1 の全身インスリン抵抗性惹起への影響は報告されているが、脂肪組織以外から分泌される MCP-1 も全身インスリン抵抗性に寄与するということが脂肪萎縮性モデルマウスを用いて初めて示されたものである。これらの結果は糖尿病と脂肪萎縮症に対する新たな治療薬開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。