代謝性疾患における脂肪酸とマクロファージによる炎症応答とのクロストーク

西山 和宏, 藤本 泰之, 中嶋 秀満, 竹内 正吉, 東 泰孝

要約: マクロファージは炎症応答を司り代謝性疾患の発症に寄与するだけでなく、全身のエネルギー代謝のバランス維持にも関与する。近年、健常時における脂肪組織内に存在するマクロファージのサブタイプに関する研究報告が相次ぎ、糖尿病やメタボリックシンドロームなどの代謝性疾患とマクロファージとの関連性に注目が集まる。今回、代謝性疾患における炎症性因子と抗炎症性因子について概説し、新しい視座を紹介する。一つ目の視座として、マクロファージのサブタイプにより炎症応答への作用が異なり、炎症応答を亢進する M1 マクロファージと、逆に炎症応答を抑制する M2 マクロファージとに分けられる。次の視座として、脂肪酸および関連因子が炎症応答に関与することが示され、飽和脂肪酸、n-9 単価不飽和脂肪酸および n-6 多価不飽和脂肪酸は炎症応答を惹起するのに対して、エイコサペンタエン酸ならびにドコサヘキサエン酸などの n-3 多価不飽和脂肪酸は炎症応答を抑制する機能を有する。したがって、マクロファージサブタイプ間と炎症や抗炎症作用を示す脂肪酸とのクロストークの研究を通じて、代謝性疾患の発症機序の理解が進み、将来の新規薬理作用点の発見に繋がることを期待したい。

1. はじめに

現在、成人の糖尿病罹患患者数は世界で 4 億 2,200 万人と推定され、国内の糖尿病患者は約 950 万人と推計される(1,2)。糖尿病は病因により 1 型糖尿病と 2 型糖尿病に分類される。1 型糖尿病は膵臓の β 細胞破壊によるインスリン分泌不全を病因とし、2 型糖尿病は膵臓からのインスリン分泌不足、あるいは肥満などによるインスリン抵抗性が病因である。国内の糖尿病患

者は約 90% が 2 型糖尿病であり、さらに 2 型糖尿病のうち、約 40% が肥満に起因するインスリン抵抗性の獲得により発症する。2 型糖尿病に対する国内の治療薬は 2014 年に販売開始された sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) 阻害薬をはじめ 7 種類の経口糖尿病治療薬が使用される。しかしながら、いずれの治療薬においても効果には個人差があることに加え副作用発生のリスク軽減は望むほどの進展がないため、個々の病態に応じた発症機序に基づく新規治療薬の開発が強く求められる。2 型糖尿病を始めとする代謝性疾患は特に患者の個人パラメーターの影響を強く反映する疾患である。2 型糖尿病発症の引き金となる肥満に着目すると、患者脂肪組織内にはマクロファージを主体とする炎症性細胞の浸潤が多数認められ、炎症性サイトカイン産生ならびにアディポカイン分泌が亢進することでインスリン抵抗性を獲得し、また脂肪組織内の炎症像は慢性化を示す(3)。このように、肥満を起因とする 2 型糖尿病の発症機序にはマクロファージを介した炎症応答の関与が明らかとなった。しかしながら、マクロファージはヘテロな細胞集団であり、異なる機能や転写プロファイルを持つサブタイプから構成されるため、マクロファージのある特定の細胞集団だけを標的とした治療戦略が代謝性疾患の克服には必要である。特に重要な 2 つのサブタイプがあり、M1 マクロファージは炎症性サイトカインおよび活性酸素種を産生し、感染時には Th1 応答を誘導することで病原体の排除ならびに強力な抗菌作用を示す。一方、M2 マクロファージは寄生虫の制御、組織修復、免疫調節、あるいはがん進展など広範な生体機能に影響を与える。本稿では、代謝性疾患として特に肥満と 2 型糖尿病を取り上げ、これらの発症機序における脂肪酸

キーワード: 脂肪酸, マクロファージ, 炎症, 抗炎症, 代謝性疾患

大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科獣医学専攻 応用薬理学教室 (〒598-8531 大阪府泉佐野市りんくう往来北 1-58)

E-mail: azuma@vet.osakafu-u.ac.jp 原稿受領日: 2017 年 1 月 17 日, 依頼原稿

Title: Crosstalk between fatty acids and inflammation in macrophages and their influence on metabolic homeostasis

Author: Kazuhiro Nishiyama, Yasuyuki Fujimoto, Hidemitsu Nakajima, Tadayoshi Takeuchi, Yasu-Taka Azuma

とマクロファージによる炎症応答との関連性に着目し、炎症に関与する因子群と抗炎症に関与する因子群、さらに両者のクロストークに関する最新の研究成果を概説する。

2. マクロファージのサブタイプ

肥満患者における脂肪組織では肥大した脂肪細胞間に多数のマクロファージ浸潤が認められる(4)。浸潤マクロファージのほとんどはM1マクロファージであり、TNF- α ならびにIL-6などの炎症性サイトカイン産生が亢進する(5)。肥満患者の脂肪組織内において、浸潤したM1マクロファージにより産生された炎症性サイトカインは、周りの脂肪細胞に作用してインスリンに対する反応性を減弱させる(6)。結果、脂肪細胞はグルコース取り込み能力が低下し、糖尿病発症のリスクが増える。したがって、浸潤したM1マクロファージによる炎症応答の惹起は、肥満を起因としたインスリン抵抗性の獲得に密接に関連する。ところで、健常者の脂肪組織内にも常在性マクロファージは存在する。しかしながら、サブタイプはM2マクロファージであり(5)、この脂肪組織内常在性M2マクロファージは血糖値の正常な維持に関与する(7)。また、肥満に伴い浸潤するマクロファージはM1サブタイプであるが、常在性のM2マクロファージも病態発症時さらには病態進行に伴いM1マクロファージに機能転換することも報告される。M1マクロファージとM2マクロファージの比率あるいは機能転換が外部から制御可能となれば、肥満や2型糖尿病だけでなく炎症性疾患ならびに代謝性疾患全般の新しい創薬点となる可能性を秘める。

3. Toll-like receptors

マクロファージは異物認識受容体である toll-like receptors (TLRs) を介して細菌やウイルスなどの病原体由来成分 (pathogen-associated molecular patterns : PAMPs) に結合し細胞応答反応を活性化させる(8)。TLRsは感染時の病原体認識だけに留まらず、通常時においても組織あるいは細胞傷害に伴い分泌、放出される成分 (danger-associated molecular patterns : DAMPs) に結合し、特異的な細胞応答を引き起こす(8, 9)。High mobility group box 1 (HMGB1) および S100B は共に DAMPs の一つであるが、脂肪細胞から放出される遊離脂肪酸も DAMPs としての役割を併せ持つ(10, 11)。遊離脂肪酸は飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸とに分類され、不飽和脂肪酸は二重結合の初めの位置により、さらに n-3, n-6, n-9 とに分類される(12)。

特に、n-3 不飽和脂肪酸および n-6 不飽和脂肪酸は必須脂肪酸として重要である。

血中の遊離脂肪酸濃度は肥満に伴い上昇することから、遊離脂肪酸は何らかの機能的役割を有すると推察される(13)。事実、肥満患者内において増加した遊離脂肪酸がマクロファージに作用し炎症応答を制御する。飽和脂肪酸であるパルミチン酸はマクロファージの TLR2 および TLR4 に結合し炎症応答を惹起する(14-16)。TLR2 は細菌やウイルスなどの PAMPs さらには生体内の DAMPs と結合し(17)、TLR2 活性化は細胞内アダプター分子である Myd88 を介して NF- κ B を活性化させ、TNF- α 、IL-6 および IL-1 β などの炎症性サイトカインを産生する(15)。マクロファージにおける NF- κ B の活性化とその後の炎症性サイトカイン産生は肥満を起因とするインスリン抵抗性を誘発する(18)。TLR4 はグラム陰性菌の細胞壁の主成分である LPS を認識することに加えて、ウイルスのエンベロープなどを認識する(17)。TLR4 活性化は前述の Myd88 に加えて別の細胞内アダプター分子である TRIF を介して I 型インターフェロンを産生する。Tlr4 遺伝子欠損マウスではインスリン抵抗性が改善することから、TLR2 だけでなく TLR4 シグナル応答により産生される炎症性サイトカインも重要である(16)。TLR2 および TLR4 は TGF- β -activated kinase 1 (TAK1) 経路を介して c-Jun N-terminal kinase (JNK) および p38 MAPK を活性化する(19-21)。マクロファージ特異的 *jnk* 遺伝子欠損マウスでは肥満によるインスリン抵抗性が改善するため(22)、TLR2 ならびに TLR4 に共通のシグナル伝達経路がインスリン抵抗性獲得に重要である。この経路の重要性は、TLR4 阻害薬である TAK-242 (Resatorvid) がインスリン抵抗性を改善させることから明らかである(23)。

4. インフラマソーム

パルミチン酸などの飽和脂肪酸はマクロファージ細胞膜上の TLR2 ならびに TLR4 に結合することに加えて、細胞内に移行した後、細胞質内に存在するパターン認識受容体の一つである NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 (NALP3) をも活性化する(24)。NALP3 は活性化することにより pycard とプロカスパーゼ-1 両者との会合が可能となり、3 者を合わせてインフラマソームと呼ばれる複合体を形成する。インフラマソームの特徴はカスパーゼ活性を有することであり、IL-1 β および IL-18 分泌に必要なプロセッシングを行う(25)。細胞外に分泌された IL-1 β はインスリン抵抗性獲得に寄与することが、2型糖尿病患者へ

の IL-1 受容体拮抗薬の投与による糖尿病症状の改善効果から示された(26). しかしながら, IL-1 受容体拮抗薬の改善効果は既存薬と比べると弱いものであった. また, NALP3 を阻害してインフラマソーム形成を抑制する isoliquiritigenin が肥満によるインスリン抵抗性を改善する(27). さらに, インフラマソームは IL-1 β だけでなく, 同様にインスリン抵抗性に関与する IL-18 の分泌も調節するため, 現在, 新規糖尿病治療ターゲットとして IL-18 に注目が集まる.

5. 脂肪酸結合タンパク質

細胞内に移行した脂肪酸は NALP3 以外にも脂肪酸結合タンパク質 (FABP) と結合する. FABP は飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸と結合するキャリアータンパク質であり, 従来, 主な役割は β 酸化による脂肪酸代謝であると考えられてきたが, 近年になり, 脂肪酸以外の分子が FABP に結合することで炎症応答を調節することが明らかとなった. FABP には FABP1 から FABP9 までの 9 つのサブタイプが存在し, マクロファージには FABP4 および FABP5 が発現する(28). FABP4 は酸化型 LDL および peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) アゴニストなどと結合し, マクロファージに炎症応答を誘起する. *Fabp4* 遺伝子欠損マウスではインスリン抵抗性が改善することが示された(29). また, FABP5 は n-9 単価不飽和脂肪酸であるオレイン酸により活性化され(30), FABP5 活性化も炎症応答を誘起する(31). 現時点では, オレイン酸などの脂肪酸以外の分子による FABP5 活性化の事例は報告されていない. 近年, FABP5 は高脂肪食誘発性の皮膚炎発症に関与することから, 何らかの炎症性あるいは代謝性疾患との関連性が考えられる(32).

6. GPR120

エイコサペンタエン酸ならびにドコサヘキサエン酸は n-3 多価不飽和脂肪酸に分類され, 抗炎症作用を示す(33). しかしながら, 作用機序については受容体を含め, 未解明なままであった. 近年, エイコサペンタエン酸ならびにドコサヘキサエン酸による抗炎症作用に G タンパク質共役受容体の一つである GPR120 が関与することが示された(34). GPR120 は活性化されると細胞質内に移行し β -arrestin-2 と結合する. GPR120 と β -arrestin-2 の複合体は TAK1-binding protein 1 (TAB1) と結合する. TAK1 と TAB1 の複合体は炎症反応誘導に必要なシグナル伝達分子であるため, TAB1 が GPR120 と β -arrestin-2 の複合体と結合することで TAK1 とは結合できなくなり, 炎症応答経路の抑制へとつな

がる(35). GPR120 はマクロファージに発現することから, n-3 多価不飽和脂肪酸は GPR120 を介してマクロファージの炎症応答を抑制しインスリン抵抗性を改善する(34). また, GPR120 の選択的アゴニストである CpdA は肥満によるインスリン抵抗性を改善することから, 広く代謝性疾患への適用拡大が期待される(36).

7. PPARs

PPARs は脂肪細胞の分化や脂質代謝などを制御する核内受容体である. PPAR には PPAR α , PPAR δ および PPAR γ の 3 つのサブタイプが存在する(37). 飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸はすべての PPAR と結合するものの, PPAR α への結合力は弱く, PPAR δ および PPAR γ へは強く結合し, これらの活性化は抗炎症作用を示す. 中でも, マクロファージに発現する PPAR γ は抗炎症作用を介して肥満によるインスリン抵抗性を改善する(38). 既に, PPAR γ アゴニストであるピオグリタゾンを経口糖尿病治療薬として使用される(39). 一方, 副作用として体重増加あるいは浮腫があり, 現在は副作用をより軽減した PPAR γ アゴニストの探索が続いている(40).

8. 脂肪酸輸送タンパク質

脂肪酸輸送タンパク質 (FATP) は細胞膜上または細胞内小器官に存在し, 遊離脂肪酸の取り込みならびに輸送に関わる. FATP は, 従来の理解ではエネルギー不足解消のため細胞が脂肪酸を取り込み, β 酸化によりエネルギー合成促進に関わると考えられてきた. FATP には FATP1 から FATP6 までの 6 つのサブタイプが存在し, 中でも, FATP1 は骨格筋細胞や心筋細胞, 脂肪細胞, さらにマクロファージなど様々な細胞に発現する(41). *Fatp1* 遺伝子欠損マウスでは肥満によるインスリン抵抗性が改善することから, FATP を介して取り込まれた脂肪酸は従来の役割とは異なる何らかの機能的役割を担う可能性が示された(42). 最近, マクロファージにおいて FATP を介した脂肪酸輸送機構が炎症応答を制御することが示された(43).

9. まとめ

図 1 に本稿で取り上げたトピックをまとめた. 今回, 代謝性疾患として 2 型糖尿病, 特に肥満を伴うインスリン抵抗性との関連性を中心に最新のトピックを紹介した. マクロファージのサブタイプ自体に炎症応答を担う M1 マクロファージと抗炎症作用を示す M2 マクロファージが存在する事実は, 炎症性疾患あるいは代謝性疾患の克服に向けて新しい創薬の力点を模索させ

図1 マクロファージにおける脂肪酸シグナリングに関わる分子種

る。しかしながら、生体内分子に目を向けると、炎症応答を促進する脂肪酸群ならびにシグナル伝達分子種がある一方で、逆に抗炎症作用を担う脂肪酸群および関連分子群も存在することから、病態の発症機序の完全解明に向けたハードルの高さがあると感じる。本稿で示した通り、脂肪酸とマクロファージ間のクロストークに参与する分子種はかなりの部分が明らかになってきた。今後は、個別の因子の役割だけでなく、全体をネットワークとして捉えることで病態の発症機序を再考し、新しい創薬点発見のための足掛かりが見つかることを期待したい。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) WHO. Global report on diabetes. 2016.
- 2) 厚生労働省. 国民健康・栄養調査(平成 24 年). 2013.
- 3) Osborn O, et al. Nat Med. 2012;18:363-374.
- 4) Weisberg SP, et al. J Clin Invest. 2003;112:1796-1808.
- 5) Lumeng CN, et al. J Clin Invest. 2007;117:175-184.
- 6) Tilg H, et al. Mol Med. 2008;14:222-231.
- 7) Satoh T, et al. Nature. 2013;495:524-528.
- 8) Kawai T, et al. Nat Immunol. 2010;11:373-384.
- 9) Tang D, et al. Immunol Rev. 2012;249:158-175.
- 10) Camell C, et al. Semin Immunol. 2015;27:334-342.
- 11) Suganami T, et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25:2062-

- 2068.
- 12) Papackova Z, et al. Int J Mol Sci. 2015;16:3831-3855.
- 13) Kankaanpää M, et al. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91:4689-4695.
- 14) Nguyen MT, et al. J Biol Chem. 2007;282:35279-35292.
- 15) Lee JY, et al. J Biol Chem. 2004;279:16971-16979.
- 16) Shi H, et al. J Clin Invest. 2006;116:3015-3025.
- 17) Akira S, et al. Cell. 2006;124:783-801.
- 18) Arkan MC, et al. Nat Med. 2005;11:191-198.
- 19) Guha M, et al. Cell Signal. 2001;13:85-94.
- 20) Fang L, et al. Cell Signal. 2014;26:806-814.
- 21) Jin J, et al. Mol Immunol. 2011;49:423-432.
- 22) Han MS, et al. Science. 2013;339:218-222.
- 23) Hussey SE, et al. Biosci Rep. 2012;33:37-47.
- 24) Wen H, et al. Nat Immunol. 2011;12:408-415.
- 25) Schroder K, et al. Cell. 2010;140:821-832.
- 26) Larsen C, et al. N Engl J Med. 2007;356:1517-1526.
- 27) Honda H, et al. J Leukoc Biol. 2014;96:1087-1100.
- 28) Furuhashi M, et al. Nat Rev Drug Discov. 2008;7:489-503.
- 29) Hotamisligil GS, et al. Science. 1996;274:1377-1379.
- 30) Siegenthaler G, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1993;190:482-487.
- 31) Moore SM, et al. Mol Immunol. 2015;67:265-275.
- 32) Zhang Y, et al. Immunity. 2015;42:953-964.
- 33) De Caterina R, et al. Arterioscler Thromb. 1994;14:1829-1836.
- 34) Oh DY, et al. Cell. 2010;142:687-698.
- 35) Talukdar S, et al. Trends Pharmacol Sci. 2011;32:543-550.
- 36) Oh DY, et al. Nat Med. 2014;20:942-947.
- 37) Guri AJ, et al. Clin Nutr. 2006;25:871-885.
- 38) Odegaard JI, et al. Nature. 2007;447:1116-1120.
- 39) Inzucchi SE, et al. Diabetes Care. 2016;39:1684-1692.
- 40) Verma N, et al. Curr Sci. 2016;111:356-367.
- 41) Anderson CM, et al. Mol Aspects Med. 2013;34:516-528.
- 42) Wu Q, et al. Mol Cell Biol. 2006;26:3455-3467.
- 43) Johnson AR, et al. Mol Metab. 2016;5:506-526.