

論文題目

Aging-associated impairment in metabolic compensation by subcutaneous adipose tissue promotes diet-induced fatty liver disease in mice.

論文内容の要旨

メタボリックシンドロームの肝臓における表現形として捉えられる非アルコール性脂肪性肝疾患（non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD）は近年増加の一途をたどっている。その発症と進展には加齢に伴うエネルギー代謝の恒常性破綻が関与しているとされる。一方、エネルギー代謝に関連する組織として、貯蔵に働く白色脂肪とは対照的に、ミトコンドリアでの非振戦性熱産生を介して散逸に働く褐色脂肪が知られるようになった。古典的な褐色脂肪は齧歯類や新生児における体温調節器官として知られ、成人では消退するとされていた。しかし、成人以降も後天的に類似組織が誘導される褐色化(browning)という現象が知られるようになり、代謝恒常性維持に働くと注目されている。褐色脂肪活性は加齢性に低下するが、褐色化能も同様に加齢性減少を来すことが示唆されている。褐色化には、皮下脂肪の間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell: MSC)が関与していると報告されているが、その加齢性変化の褐色化に与える影響は不明な点が多い。今回我々は、加齢性の褐色化の変化が NAFLD の進展に与える影響について、MSC の加齢性変化を含めて検討することとした。

6 週齢の雄の C57BL/6 マウスを用いて、通常食または高脂肪食（脂肪 60%）で 12 週間ないし 24 週間飼育を行った群を作成した。また高脂肪食の投与期間による影響を除去するために 12 週間で通常食から高脂肪食に切り替えて 24 週間飼育したスイッチ群を加えた。それら 5 群について、エネルギー代謝の測定、 $\beta 3$  アドレナリンアゴニストへの反応性による褐色脂肪活性の評価、耐糖能評価を施行し、各種臓器サンプルを採取して比較検討を行った。

また、皮下脂肪の MSC の変化を検証するために、stem cell marker panel を用いてフローサイトメトリーで皮下脂肪中の MSC 数の評価を行った。さらに、MSC の質的評価として、peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )アゴニストと  $\beta 3$ -adrenargic receptor( $\beta 3$ AdrR)アゴニストを用いた褐色脂肪細胞への分化誘導実験と、RNA アレイによる加齢性の遺伝子発現変化の検討を行った。

さらに、加齢性変化を受けた個体に若年マウスより MSC を移植することにより、MSC 老化による影響を取り除いて評価した。6 週齢の若年 C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)マウスより MSC を採取し、CD105 陽性細胞を sorting して purification を行い、高脂肪食飼育マウスに 26 週齢時点で  $10^6$  個皮下移植し、sham operation 群と比較検討を行った。

12 週間の高脂肪食飼育群では皮下脂肪に強い褐色化の出現を認め、体重増加はあったが脂肪肝の所見は軽微であった。同群ではエネルギー代謝は亢進し、耐糖能異常は認めなかった。対照的に、24 週間飼育群では皮下脂肪に褐色化は認めず、高脂肪食投与による肥満の顕著な進行と高度の脂肪肝を認め、耐糖能異常とエネルギー代謝の悪化を認めた。 $\beta 3$ AdrR アゴニストを投与してサーモグラフィーで熱産生を評価し、褐色脂肪活性の評価を行ったところ、24 週間飼育群では体温上昇の消失を認めた。これらの結果はスイッチ群でも 24 週高脂肪食飼育群と同等の結果であった。

24 週間飼育群では皮下脂肪における老化マーカー(p21,P16)の増加を認め、細胞老化指標の  $\beta$  ガラクトシダーゼ活性を X-gal 染色で評価すると、加齢と高脂肪食投与により、顕著な老化形質増加を認めた。スイッチ群は 24 週間高脂肪食飼育群と同等の結果であった。12 週間飼育群と 24 週間飼育群より採取した MSC の比較では、各種 stem cell marker 陽性細胞数は加齢に伴う減少を認めた。同分画の分化誘導実験では、12 週間飼育群では褐色脂肪細胞への分化を確認出来たが、24 週間飼育群ではほとんど確認出来なかった。RNA アレイでは fibroblast growth factor 21(FGF21)や peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1  $\alpha$  (PGC-1  $\alpha$ )など、既報で褐色化に関連すると報告されている遺伝子群の加齢性低下を認めた。

若年マウスより移植を行った群では移植後の体重減少とエネルギー代謝の改善、耐糖能の改善を認め、明らかな脂肪肝の改善を得た。移植群の皮下脂肪に褐色化の再出現を認め、 $\beta 3$ AdrR アゴニスト投与時の体温上昇も改善した。褐色化領域の一部に GFP の共発現が確認されたが、GFP 非発現細胞も多数認めた。

以上の結果から、若年では高脂肪食投与に対して代償性にエネルギー代謝が亢進し、恒常性維持に働いていたが、加齢により代償機構は破綻した。その破綻には皮下脂肪の褐色化の加齢性減少が関与していると考えられた。また皮下脂肪において MSC の加齢性減少と分化能低下が示唆され、褐色化の加齢性減少には MSC の量・質的变化が関与していると考えられた。また若年群より MSC を移植すると、褐色化の回復が得られた。MSC 自体の褐色脂肪への分化を認めたが、起源の異なる細胞の褐色化も認め、FGF21 などの分泌因子を介した細胞環境変化が褐色化に寄与している可能性が示唆された。

皮下脂肪の褐色化は代謝恒常性維持に大きく寄与しており、加齢性機能低下を改善する治療法を確立することが、今後増大する NAFLD 人口に対する新たな治療戦略となり得ると考えた。