

顆粒球に注目した運動トレーニングによる肥満マウスの慢性炎症抑制メカニズムの検討

スポーツ医科学研究領域

5013A050-1 新原 弘之

研究指導教員：鈴木 克彦 教授

【目的】

我が国では、食生活の欧米化に伴う脂質摂取量の増加および身体活動量の低下に伴いメタボリックシンドローム（内臓脂肪症候群）の患者が急増している。メタボリックシンドロームの発症には全身性の軽微な慢性炎症（systemic low-grade chronic inflammation）が関与し、サイトカインや活性酸素などの炎症性メディエーターの血中濃度が健常者と比べ高値を示し、組織常在性の好中球やマクロファージなどの免疫細胞がさまざまな炎症性サイトカインや活性酸素を産生することで全身性の炎症や酸化ストレスを誘導することが明らかにされている。実際に、高脂肪食餌によって誘導された肥満マウスの脂肪組織においては、脂肪細胞の肥大化や、マクロファージの浸潤などの組織学的変化が報告されている。最近の研究で、T細胞は脂肪組織の炎症の進展において重要な役割を果たすことが示された。なかでもCD8⁺T細胞は脂肪組織に炎症性マクロファージを浸潤させる単球走化性因子などを産生することにより、脂肪組織へのマクロファージ浸潤を誘導することが明らかにされている。さらに好中球の浸潤が増加し、脂肪組織内でケモカインやサイトカインを産生し、マクロファージの浸潤を誘導することで、慢性炎症が引き起こされることも報告されている。また肥満マウスにおいてエラスターゼを欠損させるとインスリン感受性の改善や、脂肪組織における好中球やマクロファージを減少させることで、肝臓などの臓器の炎症を改善することも報告されており、これらの炎症細胞浸潤の抑制に焦点を当てた治療法の開発が重要視されている。

肥満患者に対する運動トレーニングはサイトカインおよび活性酸素などの炎症性メディエーターの血中濃度を低下させることが報告されている。しかしながら、運動トレーニングによる組織局所の炎症状態の改善およびその機序に関しては十分に解明され

ていなかった。近年、運動トレーニングはマクロファージの浸潤を阻害することにより、肥満マウスにおける脂肪組織や肝臓の慢性炎症を予防することが報告された。しかしながら、食餌誘発性肥満マウスの脂肪組織において運動トレーニングが好中球の浸潤を変化させるか否かは明らかにされていない。そこで、本研究では、脂肪組織内における脂肪組織以外の細胞群である間質血管細胞分画（stromal vascular fraction : SVF）を採取し、好中球、マクロファージの動態変化と相互作用についてフローサイトメトリー法を用いて詳細に解析することによって、食餌誘発性肥満マウスにおける運動トレーニングによる炎症改善メカニズムを検討することを目的とした。

【方法】

4週齢のC57BL/6J雄マウスを無作為に安静＋通常食(normal diet: ND)群(n=15)、安静＋高脂肪食(high-fat diet: HFD)群(n=15)、運動トレーニング＋ND群(n=15)、運動トレーニング＋HFD群(n=15)の4群に分け、16週間飼育した。HFDは脂質60%、タンパク質20%、炭水化物20%、NDは脂質10%、タンパク質20%、炭水化物70%の組成の固形飼料を使用した。運動トレーニング群のマウスには60分/日、5回/週のトレッドミル走行を負荷した。走行速度は、最初の4週間は15m/分、残りの12週間は20m/分に設定した。最後の運動トレーニングが終了した3日後に解剖を行い、血液、精巣上体脂肪組織、脾臓組織を採取した。精巣上体脂肪組織は秤量した。採取後、精巣上体脂肪組織からはSVF細胞を、脾臓組織からは脾細胞を単離した後、細胞数を計測し、フローサイトメトリー法を用いて血液、SVF細胞中の好中球とマクロファージ、脾臓細胞中の好中球を評価した。

【結果】

脂肪組織中の好中球、マクロファージの評価は、SVF 細胞中における好中球(CD11b⁺, Ly-6G⁺ cells)、マクロファージ (CD11b⁺, F4/80⁺ cells) の構成比率及び絶対数を評価した。SVF 細胞中の好中球、マクロファージの構成比率及び絶対数共に高脂肪食で有意な高値を示し (P<0.01)、運動トレーニングにより有意な低値を示した (P<0.01)。血中の好中球の評価は、血中における好中球 (CD11b⁺, Ly-6G⁺ cells) の構成比率及び絶対数を評価し、運動トレーニングにより有意な高値を示し (P<0.01)、高脂肪食により有意な低値を示した (P<0.01)。血中の単球の評価は、血中における単球 (CD11b⁺, F4/80⁺ cells) の構成比率及び絶対数を評価したが、いずれの群間においても有意な変化は認められなかった。脾臓の好中球の評価は、脾臓細胞中における好中球 (CD11b⁺, Ly-6G⁺ cells) の構成比率及び絶対数を評価したが、構成比率においては、運動と食事の相互作用は認められなかった。しかしながら運動による主効果が認められ、運動トレーニング群は安静群と比較して有意な高値を示した (p<0.05)。絶対数においてはどの群間においても有意な変化は認められなかった。

【考察】

本研究では血液、脂肪組織および脾臓組織における好中球、マクロファージの構成比率及び絶対数をフローサイトメトリー法により分析した。その結果、高脂肪食によって脂肪組織中の好中球、マクロファージの構成比率及び絶対数は増加し、運動トレーニングにより減少することが示された。したがって、運動トレーニングにより脂肪組織への好中球、マクロファージの浸潤を抑制することで脂肪組織の炎症を抑制できる可能性が示唆された。先行研究において、好中球エラストーゼを欠損させたマウスに高脂肪食を負荷しても脂肪組織の好中球やマクロファージが増加せず、組織炎症が少ないことから、高

脂肪食餌を投与したマウスの脂肪組織内好中球がケモカインやサイトカインを放出してマクロファージの浸潤を促進し、慢性炎症を引き起こす可能性が報告されている。よって、本研究においても脂肪組織内においてマクロファージが増加したのは、好中球の浸潤が原因である可能性が示唆された。さらに、運動トレーニングによって脂肪組織内のマクロファージが減少したのは、運動トレーニングによって脂肪組織内への好中球の浸潤が抑制されたことが要因である可能性が示唆された。

血液中の好中球、単球の構成比率及び絶対数をフローサイトメトリー法で分析したところ、好中球、単球共に脂肪組織とは異なり HFD によって増加せず、運動トレーニングによって減少しなかった。これは肥満による炎症により、血中の好中球、単球が脂肪組織などに浸潤したからと考えられる。

また脾臓組織における好中球の構成比率及び絶対数をフローサイトメトリー法で分析したところ、構成比率においては運動と食餌の相互作用は認められなかった。絶対数においてはどの群間においても有意な変化は認められなかった。本研究と同様に、食餌誘発性肥満マウスにおける運動トレーニングを行った研究において、脾臓組織における CD8⁺T 細胞誘導性マクロファージの構成比率は変化しないことが示唆されている。以上のことから、運動トレーニングによる好中球のマクロファージ誘導の抑制は脂肪組織特異的である可能性が示唆された。

【結論】

本研究では、食餌誘発性肥満マウスの脂肪組織において長期間の高脂肪食により好中球、マクロファージが増加し、運動トレーニングにより減少することが示された。よって食餌誘発性肥満マウスの脂肪組織における炎症には好中球、マクロファージが関与しており、運動トレーニングはそれらの炎症細胞浸潤を抑制することにより脂肪組織の炎症を改善している可能性が考えられる。

