

肥満における脂肪細胞の低酸素誘導因子の役割

木平孝高

The roles of hypoxia-inducible factor in obesity

KIHIRA Yoshitaka

Abstract

Obesity is a medical condition in which adipocytes accumulate excess fat and become hypertrophic, causing metabolic dysfunction of adipocytes. The dysfunctional adipocytes show an adipokine secretion defect, leading to whole body insulin resistance and impaired glucose tolerance, which are causes of type 2 diabetes and cardiovascular diseases. It is known that obese adipose tissues are hypoxic and hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α , which is a master transcription factor of oxygen homeostasis, is induced in adipocytes. Since HIF-1 α regulates glucose metabolism and induces inflammation, it is considered that one of the causes of dysfunction of adipocytes and inflammation in adipose tissues in obesity is the effects of HIF-1 α in adipocytes. Recent studies indicate that HIF-1 α is upregulated by humoral factors in addition to hypoxia. We have found that basic fibroblast growth factor (bFGF) induces HIF-1 α in adipocytes, leading to changes of their metabolism. We also examined effects of HIF-1 α on the development of type 2 diabetes by using adipocyte-specific HIF-1 α knockout (ahKO) mice. ahKO mice showed improved glucose tolerance and insulin sensitivity compared with wild type (WT) mice. Macrophage infiltration and mRNA levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and tumor necrosis factor α (TNF α) were decreased in the epididymal adipose tissues of high fat diet induced obese ahKO mice. The results indicated that the obesity-induced adipose tissue inflammation was suppressed in ahKO mice. In this review, the roles of HIF-1 α in adipocytes will be discussed

はじめに

肥満が生じると、脂肪組織における血流量の低下や、脂肪細胞の肥大化による酸素の拡散の妨害により、酸素供給が減弱し、脂肪組織は低酸素状態となることが知られている (1-3)。脂肪細胞を低酸素環境に曝すと、抗炎症・抗肥満に働く adiponectin の脂肪細胞からの分泌が低下すること (4,5)、Interleukin-6 (IL-6)、Tumor Necrosis Factor- α (TNF α)、plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) といった炎症と関連のあるアディポカインの発現が増加することが明らかとなっている (6,7)。また、肥満が生じると脂肪組織にマクロファージが浸潤して

くることが明らかとなっており 8,9)、マクロファージが低酸素の影響を受けると、炎症性サイトカインである TNF α 、IL-6、IL-1 β の分泌が上昇し、より炎症性が増すことが知られている 10)。このように、肥満に伴う脂肪組織の低酸素化が、脂肪細胞の機能異常や、脂肪組織の慢性炎症の誘発に関与することが考えられる。

細胞の低酸素応答には、低酸素誘導因子-1 α (Hypoxia-inducible factor-1 α : HIF-1 α) が重要な役割を担っていることが知られている。HIF-1 α は、低酸素依存的に Erythropoietin を発現誘導する因子として Semenza らによって発見された 11)。HIF-1 α は、 β サブユニットである HIF-1 β とヘテロダイマーを形成して転写活性を示す転写因子である 12-15)。HIF-1 α の発現は、酸素濃度に大きく依存しており、低酸素状態になると発現上昇する。一方、HIF-1 β は酸素濃度に依存せず、恒常的に発現している 16)。には、 β サブユニットは、HIF-1 β のみであるが、 α サブユニットとして、HIF-1 α 、HIF-2 α 、HIF-3 α の 3 つが存在している。HIF-1 α および HIF-2 α は、低酸素環境下において発現誘導され、転写因子として働くが、HIF-3 α は転写活性化に関わる部位を欠損しており HIF-1 α や HIF-2 α と競合することで、それらの転写活性を抑制することが知られている 17,18)。

組織が低酸素環境に曝されると、各種細胞に HIF-1 α が発現し、嫌氣的解糖系を亢進したり、活性酸素種の発生を抑制することで、低酸素環境下でも細胞が生存できるように働く 19,20)。また、HIF-1 α の発現により、vascular endothelial growth factor (VEGF)、VEGF 受容体、angiopoietin の発現を上昇させることにより血管新生を促し、組織への酸素供給を増やそうとする 21)。このように、HIF-1 α は、細胞が低酸素環境化でも生存できるように働く。肥満により脂肪組織が肥大化すると、脂肪組織が低酸素化する。このとき、脂肪細胞において HIF-1 α が発現されることが知られている 3)。本稿では、脂肪組織における低酸素環境の役割について HIF-1 α の分子機能を含めて概説する。

脂肪組織における HIF-1 α の発現

脂肪細胞はエネルギーを triacylglycerol の形で貯蔵する細胞として知られていたが、近年の研究から、脂質に加えアディポカインと呼ばれるタンパク質系ホルモンを分泌する主要な内分泌細胞であることが明らかとなってきた 22-26)。アディポカインには、leptin、adiponectin、TNF α 、PAI-1 等が含まれ、これらの分泌バランスは肥満時に崩れ、抗肥満・抗炎症に働く adiponectin の発現量は減少し、炎症性サイトカインの分泌が増加することが知られている 27-29)。炎症性サイトカインの分泌が増加すること、マクロファージが脂肪組織へ浸潤することにより肥満した脂肪組織には軽度の慢性炎症が生じ、これが全身のインスリン抵抗性につながると考えられている 30-34)。また、肥満により脂肪細胞が肥大化すると、脂肪細胞の脂質代謝や糖代謝などに代謝異常が生じことも明らかとなっている 35)。この代謝異常も全身のインスリン抵抗性の発現や耐糖能異常、ひいては糖尿病や心血管障害へと繋がると考えられている 36-39)。

肥満した脂肪組織において、HIF-1 α の発現レベルが上昇していることが明らかとなっている 40-42)。HIF-1 α の発現誘導は、炎症性サイトカインの発現誘導や細胞の代謝変化をもたらすため 43,44)、肥満に伴う脂肪細胞の代謝異常や脂肪組織の炎症発現に関与することが考えられる。脂肪細胞は肥満により肥大化し、その直径が 140-180 μm に達する 45)。これは、酸

素の拡散距離 100 μm を超えているため、血管からの酸素供給が不十分となり、脂肪組織が低酸素環境となると示唆されている 46)。また、肥満した脂肪組織の血流量は、脂肪組織が拡大するにも関わらず痩せている状態の脂肪組織と同じであることから、肥満した脂肪組織には酸素供給が不足すると考えられ、これも肥満による脂肪組織の低酸素化に関与していると考えられている 47,48)。このように、複数の要因により肥満に伴う脂肪組織の低酸素化が生じ、HIF-1 α が脂肪細胞において発現誘導されると考えられる。一方、近年の解析から、HIF-1 α の発現は通常酸素圧下であっても、angiotensin II、insulin、epidermal growth factor 等の増殖因子の受容体を介したシグナル伝達刺激によって上昇することが明らかとなってきた 49-51)。Insulin を含め様々なタンパク質性ホルモンが脂肪細胞に作用することが知られておるため、これらホルモンの作用によっても脂肪細胞の HIF-1 α の発現が誘導される可能性があるのではないかと考えられる。

塩基性線維芽細胞増殖因子による脂肪細胞の HIF-1 α の発現誘導

塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor: bFGF) は、肥満により脂肪細胞から分泌され、血管新生因子として働くことが知られている 52)。また、微量アルブミン尿の排泄を伴う 2 型糖尿病患者において bFGF の血中濃度の上昇がみられる 53)。これらのことから、bFGF が脂肪細胞に作用し、HIF-1 α の発現上昇に寄与する可能性および脂肪細胞の代謝異常に関与する可能性が考えられる。

著者らは、bFGF が脂肪細胞に作用し、HIF-1 α の誘導を介して脂肪細胞の代謝を変化させることを見出した 63)。マウスに bFGF を投与すると精巣上体脂肪組織において HIF-1 α が発現誘導されることを見出した (Figure 1)。また、HIF-1 α の発現と同時に glucose transporter 1 (GLUT1) の発現も上昇していることを明らかにした (Figure 1)。GLUT1 は HIF-1 α の標的遺伝子として知られているため 54)、脂肪細胞に bFGF が作用し、HIF-1 α の発現を介して脂肪細胞の糖代謝に影響を与えることを示唆している。

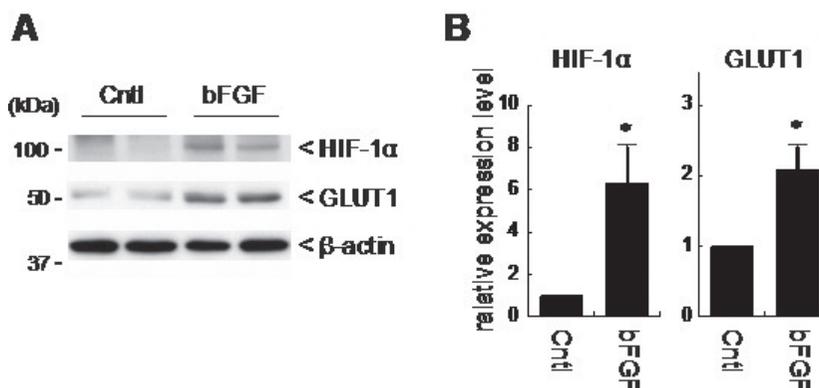


Figure 1. The effect of bFGF on HIF-1 α expression in epididymal adipose tissue

ddy マウスに 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight の bFGF を投与し、5 時間後に精巣上体脂肪組織を単離した。単離した脂肪組織からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロットにより、HIF-1

α および GLUT1 の発現を解析した。A は、ウエスタンブロット免疫染色像、B は、ウエスタンブロットの免疫染色強度を定量した結果を示す。* $P < 0.01$ 。

また、脂肪細胞に分化した 3T3-L1 細胞に bFGF を添加すると、添加後 4 時間をピークとする時間依存的な HIF-1 α の発現誘導が観察された (Figure 2)。この時、GLUT1 の発現が上昇することも明らかとなった (Figure 3)。免疫染色を行ったところ、GLUT1 は細胞膜上に発現していること (Figure 4)、細胞へのグルコースの取り込みが bFGF 処理により上昇していたことから (Figure 5)、GLUT1 は機能的に脂肪細胞膜上に発現していることが考えられる。さらに、培養液中における lactate の分泌を解析したところ、bFGF の添加により上昇していたことから、細胞内の代謝が変化していることが考えられる (Figure 5)。これらの結果は、bFGF が脂肪細胞に働き、HIF-1 α を介した GLUT1 を含めた糖代謝関連遺伝子の発現変化をもたらす、脂肪細胞の機能に影響を与えていることを示唆している。肥満に伴う脂肪細胞での HIF-1 α の発現には、脂肪組織の低酸素化だけでなく、増殖因子等の作用が関与していることが示唆される。

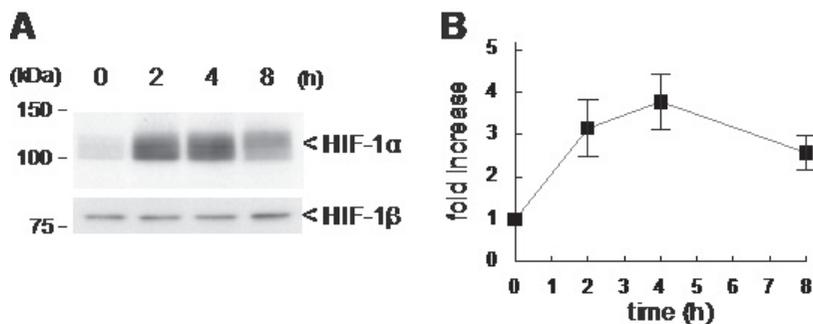


Figure 2. bFGF increases expression levels of HIF-1 α in 3T3-L1 adipocytes

脂肪細胞に分化した 3T3-L1 細胞に 20 ng/mL bFGF を添加し、所定時間インキュベートした。その後、細胞からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロットにより HIF-1 α の発現を観察した。HIF-1 β は恒常的に発現していることが知られているため 16)、内部標準として使用した。A はウエスタンブロットの泳動像を、B はウエスタンブロットの免疫染色強度を測定した結果を示す。

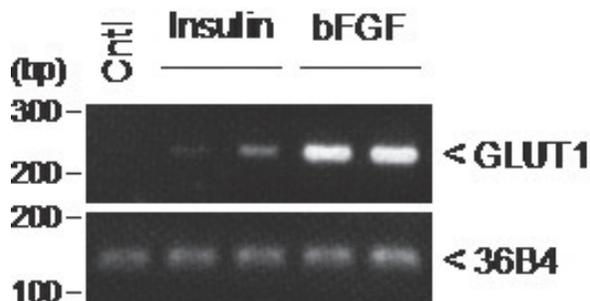


Figure 3. bFGF increases expression levels of GLUT1 in 3T3-L1 adipocytes

脂肪細胞に分化した 3T3-L1 細胞に 100 nM insulin または 20 ng/mL bFGF を添加し、4 時間インキュベートした。その後、細胞から total RNA を抽出し、RT-PCR 法により GLUT1 の発現を観察した。36B4 は内部標準として用いた。

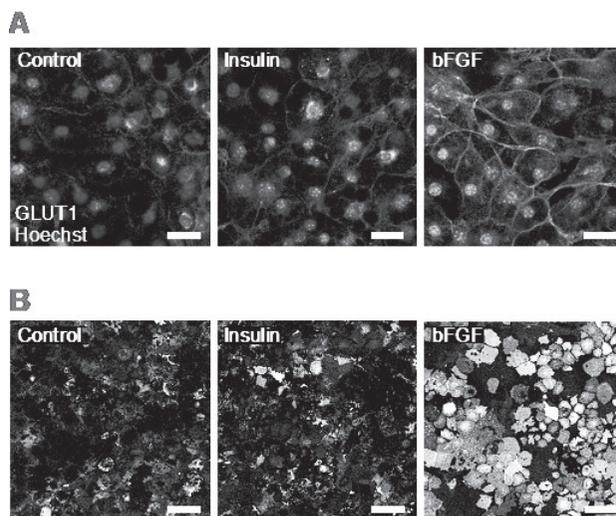


Figure 4. Localization of GLUT in bFGF-treated 3T3-L1 adipocytes

脂肪細胞に分化した 3T3-L1 細胞に 100 nM insulin または 20 ng/mL bFGF を添加し、4 時間インキュベートした。A は、GLUT1 の免疫染色像を、B は、脂肪細胞を超音波処理し破壊した後、培養ディッシュに底面に残った細胞膜に対し GLUT1 の免疫染色を行った像を示す。Bar=100 μ m。

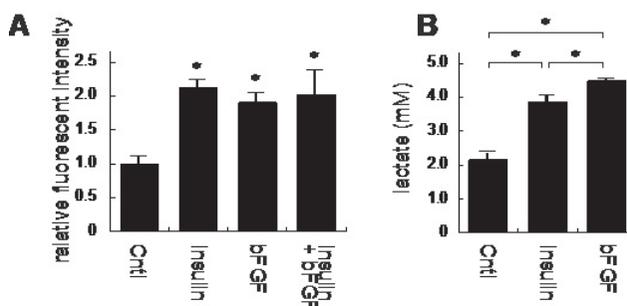


Figure 5. Glucose uptake and lactate production in bFGF-treated 3T3-L1 adipocytes

脂肪細胞に分化した 3T3-L1 細胞に 100 nM insulin または 20 ng/mL bFGF を添加し、4 時間インキュベートした。A は、細胞に 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-d-glucose (2-NBDG) を添加し、細胞内に取り込まれた 2-NBDG を蛍光プレートリーダーにて測定した結果を示す。B は、市販の kit を用いて培養上清中の lactate を測定した結果を示す。* $P < 0.01$ 。

遺伝子改変マウスを用いた脂肪細胞 HIF-1 α の解析

脂肪組織は肥満に伴い低酸素化されることから、HIF-1 α が発現し、脂肪細胞の機能異常や脂肪組織の炎症発現に関与していることが考えられる。そのため、脂肪細胞における HIF-1 α の役割については広く解析が行われている。ここでは、遺伝子改変マウスを用いた脂肪細胞の HIF の解析を取り上げる。

低酸素条件下において前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化が阻害されることが知られている (56-58)。しかしながら、HIF-1 α を欠損したマウスの胎児線維芽細胞を脂肪細胞に分化誘導する際に、低酸素による脂肪細胞への分化阻害効果が消失していることが明らかとなった。この結果から、HIF-1 α は脂肪の分化に関与していることが明らかとなった (56)。

また、Halberg らは、通常酸素圧下においても分解されず恒常的に発現する HIF-1 α の変異体を脂肪細胞に発現させたトランスジェニックマウスを作成し、脂肪細胞の HIF-1 α の役割について解析を行った (55)。このトランスジェニックマウスは、通常食を食べさせた場合においても高脂肪食を食べさせた場合においても野生型マウスよりも体重が増加することが明らかとなった。このトランスジェニックマウスは、糖負荷試験を行なった際に、野生型マウスよりも血糖値が上昇することが明らかとなった。当該トランスジェニックマウスと野生型マウスの遺伝子発現をマイクロアレイを用いて解析したところ、組織の線維化に関わる遺伝子群の発現がトランスジェニックマウスで高発現していることが明らかとなり、HIF-1 α が脂肪組織の線維化に関与することが明らかとなった。また、線維化に関わる因子 lysyl oxidase の阻害剤を投与すると、トランスジェニックマウスにみられる耐糖能異常が改善することから、HIF-1 α が線維化に関連する因子の発現を誘導し、脂肪組織が線維化することにより耐糖能の悪化につながることを示唆された。

一方、Zhang らは、HIF-1 α のドミナントネガティブ体をマウス脂肪細胞に発現させることで、脂肪細胞における HIF-1 α の作用を抑制したトランスジェニックマウスを作製した (59)。このマウスを用いた解析において、トランスジェニックマウスの体重は野生型マウスよりも重いことが明らかとなった。また、このトランスジェニックマウスは、糖負荷後の血糖値が高値を示しており、インスリン投与による血糖降下も抑制されていることから、耐糖能およびインスリン抵抗性が悪化することが示された。また、トランスジェニックマウスの脂肪組織において炎症が促進されている結果が得られている。

以上のように、脂肪細胞で HIF-1 α が過剰発現したトランスジェニックマウスと HIF-1 α のドミナントネガティブ体を発現し、脂肪細胞における HIF-1 α の作用を抑制したトランスジェニックマウスの両方において、体重の増加と耐糖能の悪化が観察された。これらの結果は、脂肪細胞の HIF-1 α が複雑な役割を担っていることを示唆しており、HIF-1 α の脂肪細胞における役割を明らかにするためには、さらなる解析を行う必要があることを意味している。

その他、HIF-1 α とヘテロダイマーを形成する HIF-1 β を脂肪細胞特異的に欠損したマウスにおいて、体重と脂肪細胞重量が減少すること、耐糖能異常の改善やインスリン抵抗性の改善、さらには、脂肪組織の炎症が改善することが報告されている (64,65)。また、HIF-2 α の脂肪細胞特異的ノックアウトマウスを用いた解析では、体重増加、耐糖能異常およびインスリン抵抗性が悪化することが示された (66)。これらの結果は、脂肪細胞が肥満に低酸素化されると HIF-1 α のみならず HIF-2 α も働き、複合的に全身の耐糖能やインスリン抵抗性に対して何らかの役割を果たしていることを示している。

脂肪細胞特異的 HIF-1 α 欠損マウスを用いた脂肪細胞 HIF-1 α の解析

著者らは、 α P2 プロモーター下流に Cre recombinase を発現するマウスと HIF-1 α の floxed マウスをかけ合わせるにより脂肪細胞特異的 HIF-1 α 欠損 (ahKO) マウスを作製した。この ahKO マウスに高脂肪食を負荷することにより肥満を誘発し、肥満に対する脂肪細胞の HIF-1 α の役割について解析を行った (67)。精巣上体脂肪組織の HIF-1 α の発現を解析したところ、HIF-1 α は野生型マウスにおいて肥満すると発現上昇すること、ahKO マウスでは HIF-1 α の発現上昇が抑制されていることが明らかとなり、確かに HIF-1 α がノックアウトされていることが明らかとなった (Figure 6)。また、HIF-2 α および HIF-1 β の発現は肥満によっても HIF-1 α によっても影響を受けず一定であった (Figure 6)。その結果、体重、精巣上体脂肪組織重量、皮下脂肪重量、随時血糖値、脂肪細胞サイズに関して、野生型マウスと ahKO マウスとの間で違いは観察されなかった (Table 1)。しかしながら、経口糖負荷試験を行ったところ、通常食を与えた場合においても高脂肪食を与えた場合においても、野生型マウスに比べ ahKO マウスの血糖値の最大値が減少しており、さらに減少が早いことが明らかとなった。これは、ahKO マウスの耐糖能が良好であることを示している (Figure 7)。また、インスリン負荷試験を行った場合、高脂肪食を負荷し肥満を誘発した場合に、野生型マウスに比べ ahKO マウスの方がインスリン投与直後に有意な血糖値減少を示した (Figure 7)。体重が変化しないにも関わらずインスリン抵抗性や耐糖能に影響が現れていることから、HIF-1 α が脂肪細胞の機能変化を通じて全身の耐糖能およびインスリン感受性に影響を与えることを示唆される。

Krishnan らは、タモキシフェン依存的に Cre recombinase を発現する脂肪細胞特異的 HIF-1 α 欠損マウスを作製し、同様に高脂肪食を負荷した解析を行った (69)。その結果、タモキシフェンを投与する前には体重、インスリン抵抗性、耐糖能に野生型マウスとノックアウトマウス間に違いは観察されなかったが、タモキシフェンを投与し、HIF-1 α を欠損させると、その後、体重が減少し、インスリン抵抗性および耐糖能がノックアウトマウスにおいて改善するという結果が得られている。これらの結果により、HIF-1 α を脂肪細胞において欠損させると全身のインスリン抵抗性および耐糖能が改善することが明らかとなった。

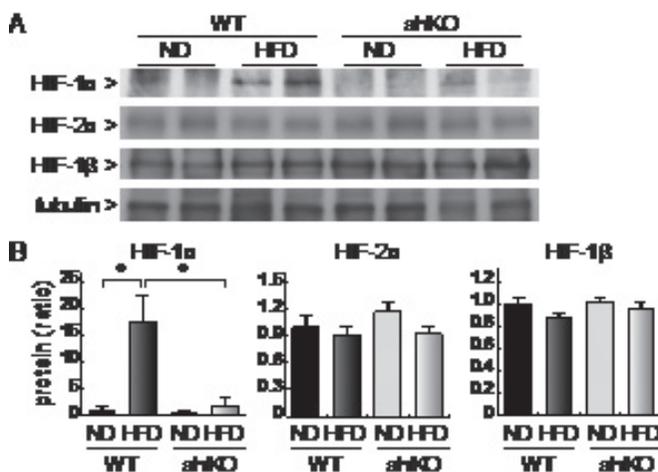


Figure 6. Expression of HIFs in epididymal adipose tissue

野生型 (WT) マウスおよび ahKO マウスに 8 週齢から 25 週齢まで高脂肪食を負荷し、その後、精巢上体脂肪組織を単離し、ウエスタンブロット法により HIF-1 α 、HIF-2 α および HIF-1 β の発現を解析した。A はウエスタンブロットによる免疫染色像を、B はウエスタンブロットの免疫染色強度を測定したものを示す。* P<0.01

Table 1. Characteristics of ahKO mice

Category	ND WT	HFD WT	ND ahKO	HFD ahKO
Body weight (g)	32.8±1.4	45.7±1.0*	34.9±5.0	46.5±2.1†
Weight of Epi fat (mg/g b.w.)	21.4±3.0	50.0±4.3*	28.3±4.0	51.1±4.3†
Weight of Sc fat (mg/g b.w.)	18.1±1.5	54.4±4.0*	18.7±2.3	54.2±2.1†
Blood glucose (mg/dL)	112.8±4.2	213.0±8.9*	109.1±17.5	188.1±7.6†
Adipocyte size (μm^2)	4844±608	8803±797*	5384±900	10384±484†

野生型 (WT) マウスおよび ahKO マウスに 8 週齢から高脂肪食を負荷し、25 週齢に達した際の体重、精巢上体脂肪組織 (Epi) 重量、皮下脂肪 (Sc) 重量、随時血糖値、組織染色像から測定した脂肪細胞サイズを示す。値は平均値±S.E.M.、* P<0.01 vs. ND WT、† P<0.01 vs. ND ahKO。

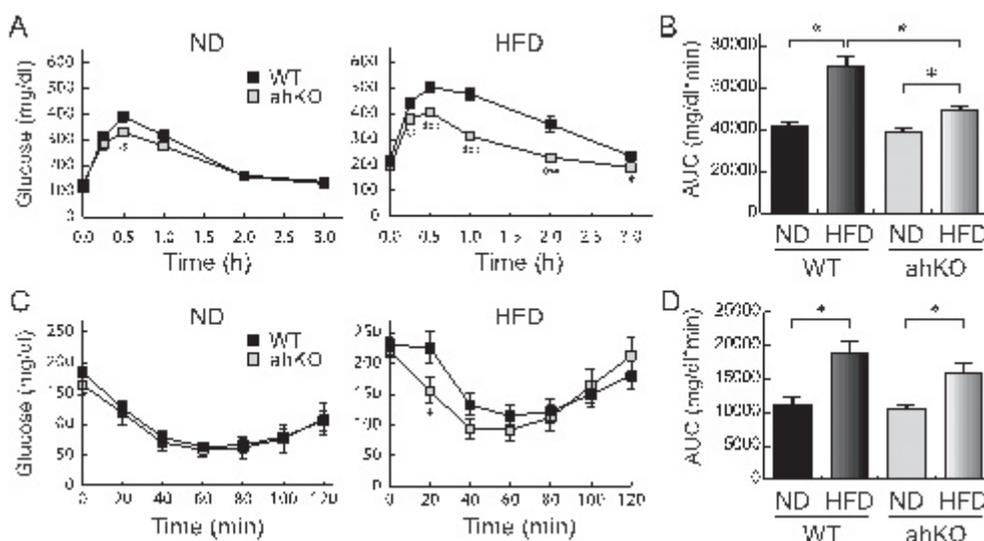


Figure 7. Glucose and insulin tolerance in normal diet- and high-fat diet-fed mice

高脂肪食 (HFD) または通常食 (ND) を負荷した 15 週齢マウスを終夜絶食し、経口糖負荷試験を行った結果 (A,B) および 4 時間絶食し、インスリン負荷試験を行った結果 (C,D) を示す。A および C はそれぞれ糖およびインスリンを負荷した後の血糖値変化を示す。B および D は血糖値の時間変化から求めた Area under the curve (AUC) を示す。* P<0.05、** P<0.01。

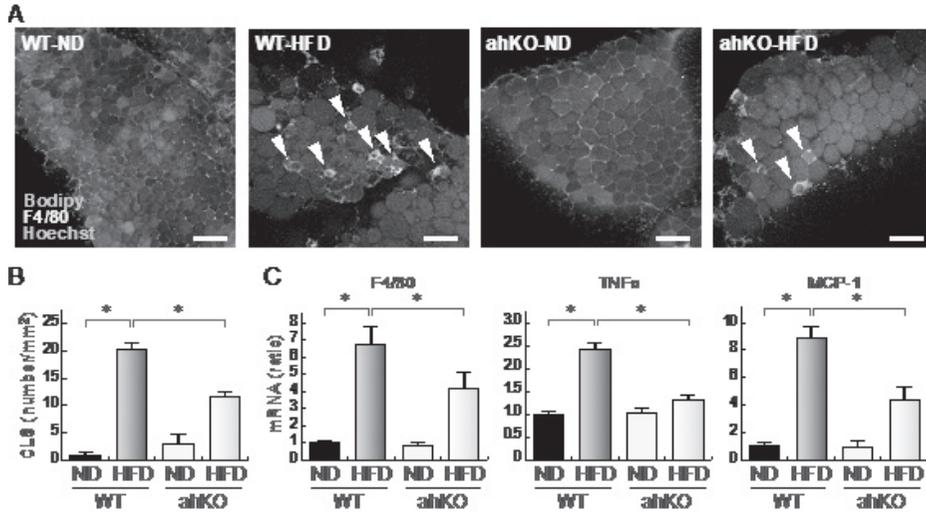


Figure 8. Inflammation of epididymal adipose tissues in ahKO mice

高脂肪食 (HFD) または通常食 (ND) を負荷した 25 週齢マウスの精巣上体脂肪組織 (epididymal adipose tissue) を単離し、1 mm³ のブロックを作成し、免疫染色を行った。A は、共焦点レーザー顕微鏡を用いた脂肪組織の蛍光染色像を示す。青はヘキストによる核染色、緑はマクロファージのマーカである F4/80 を蛍光免疫染色したもの、赤は脂肪に取り込まれる Bodipy による脂肪の染色を示す。鋸はマクロファージが集積し CLS を形成している部位を示す。B は、蛍光染色像からカウントした CLS の数を示す。C は、単離した脂肪組織から RNA を抽出し real time PCR 法を用いて F4/80、TNF α 、MCP-1 の mRNA 発現量を測定した結果を示す。* P<0.05。

ahKO マウスにおいて、肥満による耐糖能異常およびインスリン抵抗性が改善している結果が得られた。耐糖能異常やインスリン抵抗性の原因として肥満により生じる脂肪細胞の炎症が関与していることが知られている (60,61)。そこで、ahKO マウスの脂肪組織における炎症状態について解析を行った。肥満の過程で死に至った脂肪細胞の周辺をマクロファージがとり囲み、組織染色像において王冠様の構造 (crown like structure: CLS) を示す (62)。この CLS が慢性炎症の指標となるが、肥満した ahKO マウスの精巣上体脂肪組織では、野生型マウスに比べ CLS が減少していることが明らかとなった (Figure 8)。また、精巣上体脂肪組織におけるマクロファージのマーカ、F4/80 の発現量、炎症性サイトカイン TNF α および monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) の発現量は ahKO マウスにおいて有意に減少していた。これらの結果は、脂肪細胞の HIF-1 α が、肥満に伴う脂肪組織の炎症発現に関与していることを示している。特に MCP-1 は HIF-1 α の直接の標的遺伝子ということが知られているため (68)、脂肪細胞が肥満により低酸素化すると HIF-1 α が集積し、MCP-1 の発現を誘導することによってマクロファージの脂肪組織への遊走を活性化することが示唆される。これにより、脂肪組織の軽度慢性炎症が生じ、TNF α などの炎症性サイトカインが産生されることにより、脂肪細胞の機能異常や全身の耐糖能異常・インスリン抵抗性の惹起につながる事が予想される。

マクロファージ特異的 HIF-1 α 欠損マウスを用いた脂肪細胞 HIF-1 α の解析

炎症性マクロファージのマーカーとなる遺伝子は HIF-1 α の制御下にあることが報告されている (10)。また、 α P2 プロモーターはマクロファージにおいても活性化されていることが知られており (70)、 α hKO マウスにおいてもマクロファージで HIF-1 α が欠損しており、代謝に影響を与えている可能性が残る。そこで著者らは、マクロファージ特異的に HIF-1 α を欠損させるため、LysM プロモーター下流に Cre recombinase を発現するマウスと HIF-1 α の floxed マウスを掛け合わせるによりマクロファージ特異的 HIF-1 α 欠損 (mhKO) マウスを作製し、解析を行った。高脂肪食を与えると、mhKO マウスは野生型マウスと同様に肥満し、肥満に伴う血糖値上昇も同様に観察された (Figure 9)。また、経口糖負荷試験を行ったところ、通常食を与えた場合においても高脂肪食を与えた場合においても野生型マウスと mhKO マウスに有意な血糖値の差は観察されなかった (Figure 10)。これらの結果から、マクロファージの HIF-1 α を欠損しても肥満に伴う代謝異常には影響が生じないことが明らかとなった。さらに、肥満による脂肪組織へのマクロファージの浸潤を調べるため、マクロファージのマーカーである F4/80 の精巣上体脂肪組織での発現を調べたところ、野生型マウスと mhKO マウスに有意な差は観察されなかった (Figure 11)。以上の結果から、マクロファージの HIF-1 α は肥満に伴う脂肪組織の炎症の発現には大きな影響を及ぼさないと考えられ、 α hKO マウスに観察された代謝変化は脂肪細胞の HIF-1 α の影響によるものと考えられる。つまり、脂肪が低酸素の影響を受け機能異常をきたすことが、肥満による脂肪組織炎症の誘因となると考えられる。

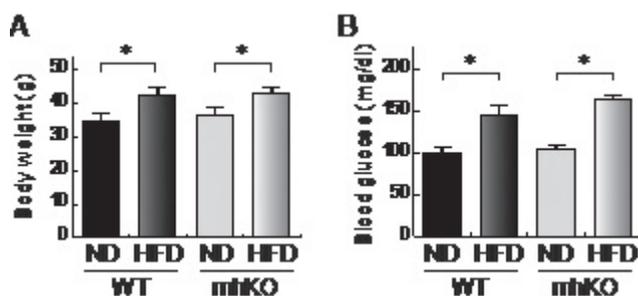


Figure 9. Body weight and blood glucose of mhKO mice

高脂肪食 (HFD) または通常食 (ND) を負荷した野生型 (WT) マウスおよび mhKO マウスの 15 週齢における体重 (A) と血糖値 (B) を示す。* P < 0.05

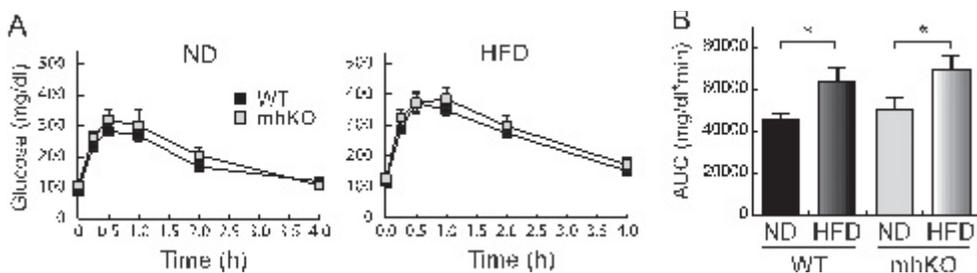


Figure 10. Glucose tolerance test in mhKO mice

高脂肪食 (HFD) または通常食 (ND) を負荷した野生型 (WT) マウスおよび mhKO マウスに傾向糖負荷試験を行った。A は血糖値の時間変化を、B は血糖値の時間変化から求めた AUC を示す。* P<0.05

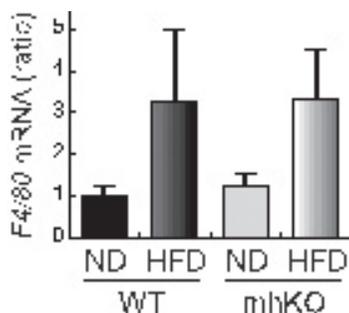


Figure 11. Macrophage infiltration into epididymal adipose tissues in mhKO mice

野生型および mhKO マウスの精巣上体脂肪組織から単離した RNA を用いてマクロファージのマーカである F4/80 の mRNA 発現を real-time PCR 法を用いて解析した。

おわりに

肥満により脂肪細胞が低酸素化することが脂肪細胞の機能異常を引き起こし、脂肪組織の軽度慢性炎症の惹起に繋がり、さらには、全身の耐糖能異常やインスリン抵抗性の発現につながるものが明らかとなってきた。HIF-1 α は、このような肥満に伴う代謝異常の一連の悪循環の中で重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。しかしながら、免疫システムおよび代謝システムの複雑な相互作用を明らかにするには至っていない。免疫システム、代謝システムの連関を HIF-1 α という因子を中核として理解していくことは、肥満から糖尿病へと続く過程のみならず多くの慢性炎症および酸素供給不足を伴う疾患の理解に対して重要であると考えられる。これらの重要な事実を明らかにすることで、多くの疾患の治療に新しい道を開くことが期待される。

参考文献

1. Goossens GH, Bizzarri A, Venticlef N, Essers Y, Cleutjens JP, Konings E, Jocken JW, Cajlakovic M, Ribitsch V, Clément K, Blaak EE, *Circulation*, 2011, 124, 67–76.
2. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92, 1023–1033.
3. Goossens GH, Moors CC, van der Zijl NJ, Venticlef N, Alili R, Jocken JW, Essers Y, Cleutjens JP, Clément K, Diamant M, Blaak EE, *PLoS One*, 2012, 7, e39930.
4. Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Segawa K, Furukawa S, Tochino Y, Komuro R, Matsuda M, Shimomura I, *Diabetes*, 2007, 56, 901–911.
5. Ye J, Gao Z, Yin J, He Q, (2007) *Am. J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293, E1118–E1128.

6. Wang B, Wood IS, Trayhurn P, *Pflugers Arch*, 2007, 455, 479–492.
7. Itoh M, Suganami T, Hachiya R, Ogawa Y. *Int J Inflam*, 2011, Article ID 720926, 8 pages
8. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr., *J Clin Invest*, 2003, 112, 1796–1808.
9. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen HJ, *Clin Invest*, 2003, 112, 1821–1830.
10. Fujisaka S, Usui I, Ikutani M, Aminuddin A, Takikawa A, Tsuneyama K, Mahmood A, Goda N, Nagai Y, Takatsu K, Tobe K, *Diabetologia*, 2013, 56, 1403–1412.
11. Semenza GL, Wang GL, *Mol Cell Biol*, 1992, 12, 5447–5454.
12. Wang GL, Semenza GL, *J Biol Chem*, 1995, 270, 1230–1237.
13. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92, 510–514.
14. Hara S, Hamada J, Kobayashi C, Kondo Y, Imura N, *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 287, 808–813.
15. Tian H, McKnight SL, Russell DW, *Genes Dev*, 1997, 11, 72–82.
16. Semenza GL *Trends Cardiovasc Med*, 1996, 6, 151–157.
17. Makino Y, Cao R, Svensson K, Bertilsson G, Asman M, Tanaka H, Cao Y, Berkenstam A, Poellinger L, *Nature*, 2001, 414, 50–54.
18. Makino Y, Kanopka A, Wilson WJ, Tanaka H, Poellinger L, *J Biol Chem*, 2002, 27, 32405–32408.
19. Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC, *Mol Cell*, 2010, 40, 294–309.
20. Tello D, Balsa E, Acosta-Iborra B, Fuertes-Yebra E, Elorza A, Ordóñez Á, Corral-Escariz M, Soro I, López-Bernardo E, Perales-Clemente E, Martínez-Ruiz A, Enríquez JA, Aragonés J, Cadenas S, Landázuri MO, *Cell Metab*, 2011, 14, 768–79.
21. Ke Q, Costa M, *Mol Pharmacol*, 2006, 70, 1469–1480.
22. Trayhurn P, Beattie JH, *Proc Nutr*, 2001, 60, 329–339.
23. Rajala MW, Scherer PE, *Endocrinology* 2003, 144, 3765–3773.
24. Kershaw EE, Flier JS, *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89, 2548–2556.
25. Trayhurn P, Wood IS, *Br J Nutr* 2004, 92, 347–355.
26. Rosen ED, Spiegelman BM, *Nature*, 2006, 444, 847–853.
27. Trayhurn P, Wood IS, *Br J Nutr*, 2004, 92, 347–355.
28. Wellen KE, Hotamisligil GS, *J Clin Invest*, 2005, 115, 1111–1119.
29. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y, *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 257, 79–83.
30. Rosen ED, Spiegelman BM, *Nature* 2006, 444, 847–853.
31. Yudkin JS, *Int J Obes*, 2003, 27, Suppl. 3, S25–S28.
32. D Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H, *J Clin Invest*, 2003, 112, 1821–1830.

33. Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, Bouloumié A, *Diabetes*, 2004, 53, 1285–1292.
34. F Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, Kitazawa S, Miyachi H, Maeda S, Egashira K, Kasuga M, *J Clin Invest*, 2006, 116, 1494–1505.
35. Saltiel AR, Kahn CR, *Nature*, 2001, 414, 799–806.
36. Lombardi AM, Fabris R, Bassetto F, Serra R, Leturque A, Federspil G, Girard J, Vettor R, *Am J Physiol* 1999, 276, E922–E929.
37. Vettor R, Lombardi AM, Fabris R, Pagano C, Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Federspil G, Jeanrenaud B, *Metabolism*, 1997, 46, 684–690.
38. Shulman GI, *J Clin Invest*, 2000, 106, 171–176.
39. Hwang JH, Pan JW, Heydari S, Hetherington HP, Stein DT, *J Appl Physiol* 2001, 90, 1267–1274.
40. Ye J, Gao Z, Yin J, He Q, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293, E1118–E1128.
41. Ivan M, Kondo K, Yang H, Kim W, Valiando J, Ohh M, Salic A, Asara JM, Lane WS, Kaelin WG Jr., *Science*, 2001, 292, 464–8.
42. Canello R, Henegar C, Viguerie N, Taleb S, Poitou C, Rouault C, Coupaye M, Pelloux V, Hugol D, Bouillot JL, Bouloumié A, Barbatelli G, Cinti S, Svensson PA, Barsh GS, Zucker JD, Basdevant A, Langin D, Clément K, *Diabetes*, 2005, 54, 2277–86.
43. Mojsilovic-Petrovic J, Callaghan D, Cui H, Dean C, Stanimirovic DB, Zhang W, *J. Neuroinflammation* 2007, 4, 12.
44. Chen C, Pore N, Behrooz A, Ismail-Beigi F, Maity A, *J Biol Chem*, 2001, 276, 9519–9525.
45. Brook CG, Lloyd JK, Wolf OH, *Br Med J*, 1972, 2, 25–27.
46. Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK, *Nat Med*, 1997, 3, 177–182.
47. N Virtanen KA, Lonroth P, Parkkola R, Peltoniemi P, Asola M, Viljanen T, Tolvanen T, Knuuti J, Rönnemaa T, Huupponen R, Nuutila P, *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87, 3902–3910.
48. Kabon B, Nagele A, Reddy D, Eagon C, Fleshman JW, Sessler DI, Kurz A, *Anesthesiology*, 2004, 100, 274–280.
49. Richard DE, Berra E, Gothié E, Roux D, Pouysségur J, *J Biol Chem* 1999, 274, 32631–32637.
50. Zelzer E, Levy Y, Kahana C, Shilo BZ, Rubinstein M, Cohen B, *EMBO J*, 1998, 17, 5085–5094.
51. Zhong H, Chiles K, Feldser D, Laughner E, Hanrahan C, Georgescu MM, Simons JW, Semenza GL, *Cancer Res*, 2000, 60, 1541–1545.
52. Cao Y, *J Clin Invest*, 2007, 117, 2362–2368.
53. Zimring MB, Eng J, *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81, 4446–4452.
54. M Hayashi, M Sakata, T Takeda, T Yamamoto, Y Okamoto, *J Endocrinol*, 2004, 183, 145–154.
55. Halberg N, Khan T, Trujillo ME, Wernstedt-Asterholm I, Attie AD, Sherwani S, Wang ZV, Landskroner-Eiger S, Dineen S, Magalang UJ, Brekken RA, Scherer PE, *Mol Cell Biol*, 2009, 29, 4467–4483.
56. Yun Z, Maecker HL, Johnson RS, Giaccia AJ, *Dev Cell* 2002, 2, 331–341.
57. Kim KH, Song MJ, Chung J, Park H, Kim JB, *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333, 1178–1184.

58. Wang B, Wood IS, Trayhurn P, *J Endocrinol*, 2008, 198, 127–134.
59. Zhang X, Lam KS, Ye H, Chung SK, Zhou M, Wang Y, Xu A, *J Biol Chem*, 2010, 285, 32869–32877.
60. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*, 2008, 9, 367–377.
61. Gregor MF, Hotamisligil GS, *Annu. Rev. Immunol*, 2001, 29, 415–445.
62. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, Wang S, Fortier M, Greenberg AS, Obin MS, *J Lipid Res*, 2005, 46, 2347–55.
63. Kihira Y, Yamano N, Izawa-Ishizawa Y, Ishizawa K, Ikeda Y, Tsuchiya K, Tamaki T, Tomita S, *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43, 1602-11.
64. Jiang C, Qu A, Matsubara T, Chanturiya T, Jou W, Gavrilova O, Shah YM, Gonzalez FJ, *Diabetes*, 2011, 60, 2484–95
65. Lee KY, Gesta S, Boucher J, Wang XL, Kahn CR, *Cell Metab*, 2011, 14, 491–503.
66. Lee YS, Kim JW, Osborne O, Oh DY, Sasik R, Schenk S, Chen A, Chung H, Murphy A, Watkins SM, Quehenberger O, Johnson RS, Olefsky JM, *Cell*, 2014, 157, 1339–52.
67. Kihira Y, Miyake M, Hirata M, Hoshina Y, Kato K, Shirakawa H, Sakaue H, Yamano N, Izawa-Ishizawa Y, Ishizawa K, Ikeda Y, Tsuchiya K, Tamaki T, Tomita S, *PLoS One*, 2014, 9, e93856.
68. Mojsilovic-Petrovic J, Callaghan D, Cui H, Dean C, Stanimirovic DB, Zhang W, *J Neuroinflammation*, 2007, 4, 12.
69. Krishnan J, Danzer C, Simka T, Ukropec J, Walter KM, Kumpf S, Mirtschink P, Ukropcova B, Gasperikova D, Pedrazzini T, Krek W, *Genes Dev*, 2012, 26, 259–70.
70. Makowski L, Boord JB, Maeda K, Babaev VR, Uysal KT, Morgan MA, Parker RA, Suttles J, Fazio S, Hotamisligil GS, Linton MF, *Nat Med*, 2001, 7, 699–705.