

## 一般講演 2

マクロファージが分泌する細胞外小胞は乳酸菌の抗肥満効果を媒介する

<sup>1</sup>伊藤洋平、<sup>1</sup>鶴田剛司、<sup>1</sup>西野直樹、<sup>1</sup>Terry Muhomah、<sup>2</sup>園山慶

<sup>1</sup>岡山大学院・環境生命科学科、<sup>2</sup>北海道大学院農学研究院

【背景・目的】*Lactobacillus plantarum* No.14 株(LP14)は、マウスに経口摂取させることで白色脂肪細胞への脂肪蓄積抑制効果やインスリン感受性の改善効果が報告されている。しかし、腸管から遠く離れた脂肪組織に LP14 の刺激がどのように伝達され、抗肥満効果を発揮しているかは不明である。摂取した乳酸菌の一部は腸管の M 細胞から取り込まれ、粘膜下の貪食細胞に貪食されることが知られている。乳酸菌を貪食した貪食細胞は全身循環することができないため、分泌物を媒介因子として乳酸菌刺激を全身の細胞に伝達していることが考えられる。貪食細胞の分泌物には、サイトカインをはじめとするタンパク質や細胞外小胞がある。我々は、これらの分泌物のうち組織指向性を有する細胞外小胞 (Extracellular vesicles : EVs) に着目し、「LP14 を貪食した貪食細胞が分泌した EVs が LP14 の脂肪蓄積抑制効果を媒介する」という仮説を立てた。本研究では、LP14 の抗肥満効果のメカニズムを解明するためにこの仮説を検証した。

【材料・方法】C57BL/6J マウスの骨髄から分化誘導したマクロファージを単独または LP14 存在下で培養し、培養上清を回収した。超遠心分離法により EVs を回収した (対照 EVs、LP14EVs)。本研究では、EVs が作用する細胞としてインスリンの標的細胞である白色脂肪細胞および骨格筋細胞を想定し、マウス脂肪前駆細胞株 3T3L1 および筋芽細胞株 C2C12 をそれぞれ供試した。EVs の細胞内取り込みを評価するために、PKH67 染色した EVs の取り込みを蛍光顕微鏡で評価した。LP14EVs が白色脂肪細胞の脂肪蓄積に及ぼす影響を検証するために、EVs と 3T3L1 を共培養後、脂肪蓄積を Adipored 法により、脂肪代謝関連の遺伝子発現を qPCR 法によりそれぞれ評価した。また、白色脂肪細胞および骨格筋細胞の糖取り込みに LP14EVs が及ぼす影響を評価するために、EVs と 3T3L1 および C2C12 をそれぞれ共培養後、糖取り込みを 2-NBDG 法により評価した。

【結果・考察】対照 EVs と LP14EVs は 3T3L1 および C2C12 細胞の細胞内に取り込まれることが明らかとなった。対照 EVs と比較して LP14EVs の添加により脂肪細胞の脂肪蓄積は添加濃度依存的に有意に抑制された。また、LP14EVs は脂肪細胞分化のマスターレギュレーターである C/EBP $\alpha$  とその上流の転写因子である KLF5 の発現を有意に抑制した。C/EBP $\alpha$  の制御下にある遺伝子群のうち脂肪酸合成酵素である FAS および ACC1、中性脂肪合成酵素である Gpam、脂肪酸の細胞内取り込みを行う LPL の遺伝子発現も対照 EVs と比較して LP14EVs の添加により有意に抑制された。この結果から、LP14 の脂肪蓄積抑制作用はマクロファージが分泌する細胞外小胞によって媒介されていることが示唆された。

興味深いことに、LP14EVs が糖取り込みに及ぼす影響は細胞種によって異なっていた。脂肪細胞株である 3T3L1 では対照 EVs と比較して LP14EVs の添加により糖取り込みが有意に抑制されたのに対し、骨格筋細胞株である C2C12 では両 EVs の作用に違いが見られなかった。これらの結果から、LP14EVs は脂肪細胞に対してインスリン依存的な糖取り込み・脂肪蓄積の抑制といったインスリン感受性を下げる作用を示す一方で、骨格筋細胞のインスリン感受性に対しては影響を与えないことが示唆された。