

令和元年6月14日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16143

研究課題名(和文)肥満時の細胞内代謝によってマクロファージが肝がん促進性へと変化する機序の解明

研究課題名(英文) the metabolic changes in macrophages that promote obesity-associated liver cancer

研究代表者

瀧川 章子(Takikawa, Akiko)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・客員助教

研究者番号：80647454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、肥満マウスにおいて肝臓マクロファージ(m)のHIF-1が活性化し、肝がん発症を促進すると報告してきた。本研究課題では、肥満に伴うm HIF-1の活性化の機序について検討した。m HIF-1欠損マウスでは、肝がんの発症率が低下した。肝臓の炎症反応およびERK活性化の軽減が肝がん減少の一因と考えられた。

肥満では肝臓m HIF-1が低酸素非依存性に活性化していた。mの細胞内代謝を解析したが、HIF-1活性化作用を持つとされるsuccinateや他の代謝物は、肥満の有無で差を認めなかった。肥満時に肝臓mのHIF-1を活性化する因子の同定は、解析法を含め今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満時に肝臓マクロファージ(m)のHIF-1が活性化し、肝がん発症を促進することを学術論文で報告した。

また肥満時の肝がん発症の機序として肝臓での炎症反応およびERK活性化が関与することを明らかにした。

m内でHIF-1を活性化する代謝物の同定には至らず、肝臓マクロファージの抽出、メタボローム解析の手法の見直し、変更が必要であると考えられた。m HIF-1を活性化する因子の同定は今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：We have recently reported that HIF-1 in liver macrophages (m) is activated, which promote liver cancer in obese mice. In this study, I examined the mechanisms for the activation of m HIF-1 during obesity. The incidence of liver cancer in obesity and chemical carcinogen-induced liver cancer model mice was reduced by m-specific HIF-1-deficiency by about 45%. Reduction in liver inflammation and ERK activation was considered to contribute to the reduced incidence of liver cancer.

Since HIF-1 of liver m in obese mice was activated in hypoxia-independent manner, intracellular metabolites of liver m was analyzed. However, succinate and other metabolites, which had been speculated to activate HIF-1, did not change between obese and lean mice. Further studies are needed to identify the factors activating the HIF-1 in liver m during obesity in the future.

研究分野：代謝

キーワード：マクロファージ 肝がん HIF-1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥満症や糖尿病でがんの発症リスクが上昇することは広く認知されるようになった。なかでも肝がんは、肥満に伴う脂肪肝炎 (NASH) の増加に伴い発症数が増えており、その対策の重要性が高まっている。

申請者らの研究グループは、これまで肥満症や糖尿病でのマクロファージによる慢性炎症を中心に研究を進めてきた。マクロファージはがん局所に浸潤し、がんの発症・進展制御にも関与することが知られているが、肥満時の肝がんでの関与は不明であった。一方、マクロファージ内の代謝経路の変化が炎症性の M1 マクロファージや抗炎症性・創傷治癒にはたらく M2 マクロファージなどの極性獲得に寄与することが報告されていた (Tnanahill et.al., Nature, 2013)。肥満時に細胞内の代謝変化によってマクロファージの腫瘍促進的あるいは抗腫瘍的な機能変化が誘発されると想定し、申請者は「肥満によるマクロファージ内の代謝変化によって HIF-1 が活性化し、マクロファージが肝がん促進性の機能を獲得する」との仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では、(1)肥満時のマクロファージ内代謝変化によって HIF-1 が活性化すること、(2) HIF-1 活性化を介してマクロファージが腫瘍促進性の機能を獲得すること、及びその機序を明らかとする。

3. 研究の方法

(1) 肥満におけるマクロファージ HIF-1 の活性化の有無を検証する。

肥満マウスでマクロファージの HIF-1 が活性化していることを HIF-1 の組織染色と HIF-1 下流の遺伝子発現を qPCR により解析する。

(2) 肥満時にマクロファージ HIF-1 を活性化させる代謝物を同定する。

肥満肝がん発症マウス、非肥満マウス、肥満肝がん発症 HIF-1 欠損マウスの 3 群を用い、肝臓マクロファージ内の代謝産物を解析し、肥満による代謝物の変化および HIF-1 欠損による変化をもとに肥満時に HIF-1 の活性化に関与する代謝物を同定する。肝臓マクロファージは磁気ビーズ法により分離する。メタボローム解析では、LC/MS (液体クロマトグラム質量分析計) と GC/MS (ガスクロマトグラム質量分析計) を併用し、解糖系や TCA 回路のエネルギー代謝を中心に測定するとともにアミノ酸代謝や核酸代謝などについても解析を行い、幅広い細胞内代謝の変化を捉える。

(3) 代謝変化と HIF-1 活性化の因果関係を検証: 前述の(2)で同定した代謝物によってマクロファージの HIF-1 が活性化されることを証明する。

骨髄由来マクロファージおよび肝臓マクロファージを用い、候補代謝物の処置により HIF-1 の活性化をルシフェラーゼアッセイにより解析する。また HIF-1 下流の遺伝子発現を qPCR で解析する。

4. 研究成果

マウスの高脂肪食飼育では、通常食飼育に比べ化学発がん物質 DEN (diethylnitrosamine) 投与後早期から肝がんが発症し、高脂肪食肥満による肝がんの発症促進効果を確認した。マクロファージ HIF-1 欠損マウス (KO) では野生型 (WT) の肥満肝がん発症マウスと比較し高脂肪食 5 か月および 6 か月時点での腫瘍数が約 45% 減少した。腫瘍径や発症率には差を認めなかった。このような腫瘍数の減少は通常食飼育下では認められず、高脂肪食肥満に伴うマクロファージの機能変化に HIF-1 が関与することが示唆された。そこで、magnetic beads を用いて肝臓のマクロファージを分離して解析したところ、KO 由来のマクロファージは WT と比較し炎症関連遺伝子を含む M1 マーカーだけでなく M2 マーカーの発現も減少していた (図 1)。またウエスタンブロットでは肝臓の ERK 活性化が KO では WT に比べ抑制されていた (図 2)。肥満時に KO で肝臓の炎症反応および ERK 活性化が軽減していることが肝がん減少の一因と考えられた。

図 1

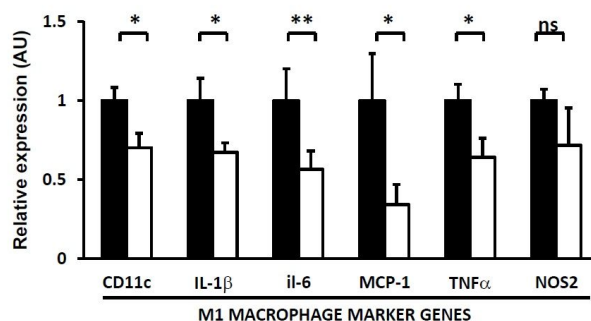
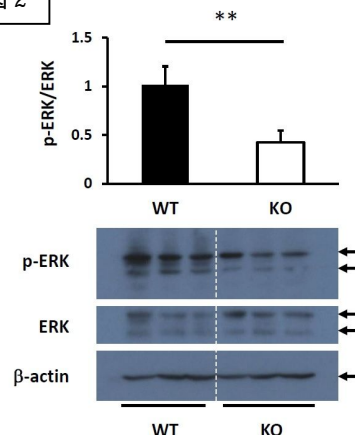
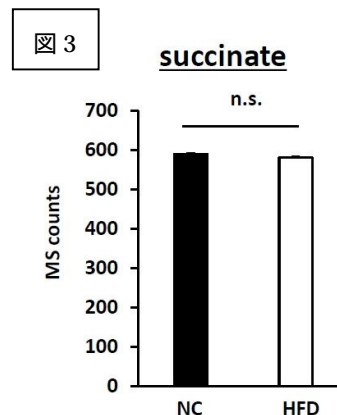


図 2



肥満では肝臓マクロファージ HIF-1 が低酸素非依存性に活性化していた。マクロファージの細胞内代謝を解析したが、HIF-1 活性化作用を持つとされる succinate や他の代謝物は、肥満の有無で差を認めなかった。肥満時に肝臓マクロファージの HIF-1 を活性化する因子の同定は、解析法を含め今後の課題である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Takikawa Akiko, Usui Isao, Fujisaka Shiho, Tsuneyama Koichi, Okabe Keisuke, Nakagawa Takashi, Nawaz Allah, Kado Tomonobu, Jojima Teruo, Aso Yoshimasa, Hayakawa Yoshihiro, Yagi Kunikimi, Tobe Kazuyuki. Macrophage specific hypoxia inducible factor 1 deletion suppresses the development of liver tumors in high fat diet fed obese and diabetic mice. Journal of Diabetes Investigation, 査読有、2019
<https://doi.org/10.1111/jdi.13047>

〔学会発表〕(計 1 件)

瀧川章子、薄井勲、張群、岡部圭介、角朝信、Allah Nawaz、藤坂志帆、中川崇、常山幸一、戸邊一之、第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会、2017 年 5 月 18 日、名古屋

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名： 該当者なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 該当者なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。