

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 科学研究費助成事業

## 研究成果報告書



令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18002

研究課題名(和文) M2マクロファージの除去により、ベージュ化が亢進するメカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism by which depletion of M2 macrophages promotes beige/browning of white adipose tissue

研究代表者

五十嵐 喜子 (Igarashi, Yoshiko)

富山大学・学術研究部医学系・特命助教

研究者番号：30837688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：一般的に「脂肪」と呼ばれる白色脂肪細胞はエネルギー蓄積型であるが、寒冷刺激後に現れるベージュ脂肪細胞はエネルギー燃焼型で基礎代謝を高める。抗炎症性のM2マクロファージ(M2 M<sub>2</sub>)を任意のタイミングで除去できる遺伝子改変マウスを用いて、M2 M<sub>2</sub> 除去後のマウスに寒冷刺激を施してベージュ化を促し、野生型に比べてベージュ前駆脂肪細胞の増殖が誘導され、ベージュ脂肪細胞が増加し、耐糖能・インスリン抵抗性の改善が起こることを明らかにした。さらに、このM2 M<sub>2</sub> 除去によるベージュ化の促進のメカニズムを明らかにするため、遺伝子改変マウスの作製を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

M2マクロファージの除去は脂肪組織中のベージュ脂肪細胞を効率よく増加させた。この発見は、エネルギーを蓄積しやすい体質からエネルギーを燃焼しやすい体質へと変化させるために、M2マクロファージの働きを制御することが重要であることを示した。これは、代謝疾患を持つ人々にとどまらず、代謝の高い健康的な体作りにM2マクロファージが重要な役割を持つことを示し、本研究成果を応用することで、運動に頼らない、新しい体質改善方法を見出せる可能性を持つ。

研究成果の概要(英文)：White adipose tissue (WAT), commonly referred to as 'fat', are energy-storing adipose tissue, whereas beige adipocytes, induced upon cold stimulation, dissipates stored energy as heat. How depletion of M2-like M<sub>2</sub> regulate beige or browning of WAT remains unknown. I examined the role of CD206 M2-like macrophages in the browning of WAT by using genetically engineered CD206DTR mice, in which CD206 M2-like M<sub>2</sub> were conditionally depleted. I report that depletion of CD206 M2-like M<sub>2</sub> promotes beige or browning of WAT, and induces proliferation of beige progenitors upon cold stimulation. Depletion of CD206 M2-like M<sub>2</sub> results in improved glucose tolerance and enhanced systemic insulin sensitivity upon cold stimulation. We attributed this phenomenon to the downregulation of TGF- $\beta$  signaling. Furthermore, in order to clarify the mechanism of this enhanced beige/browning phenomenon by depletion of CD206 M2-like M<sub>2</sub>, we generated another genetically engineered mice.

研究分野：肥満

キーワード：ベージュ脂肪細胞

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

### 1．研究開始当初の背景

私は、代謝を高め肥満の予防効果が期待できるエネルギー燃焼型の脂肪細胞、ベージュ脂肪細胞に着目して研究を行っている。一般的に「脂肪」と呼ばれる白色脂肪細胞はエネルギー蓄積型であるが、寒冷刺激後に現れるベージュ脂肪細胞はエネルギー燃焼型で基礎代謝を高める。一方、私どもの研究室では免疫と肥満の関係について研究を行っており、近年では肥満の脂肪細胞で減少する、炎症性のM2マクロファージに着目してきた。M2マクロファージを任意のタイミングで除去できる遺伝子改変マウスを用いて肥満とM2マクロファージの関係の解明に取り組んだ結果、これまでに、M2マクロファージがサイトカイン（TGF $\beta$ ）を介して前駆脂肪細胞の増殖・分化を抑制し、M2マクロファージ除去後の脂肪組織では、健全な小型の脂肪細胞が増加してインスリン抵抗性が改善することを明らかにした。M2マクロファージの除去によるTGF $\beta$ の減少が前駆脂肪細胞の増殖・分化を抑制しているのであれば、ベージュ脂肪細胞の前駆細胞についてもM2マクロファージ除去後に増殖が行われ、寒冷刺激を加えることで、ベージュ化が促進し、効率良くベージュ脂肪細胞が作られるのではないかと考え、本研究に取り組んだ。

### 2．研究の目的

肥満者の人口は世界的に増加しており、2型糖尿病の原因として深刻な社会問題となっている。寒冷刺激による脂肪組織の「ベージュ化」はエネルギー貯蔵型の白色脂肪細胞をエネルギー燃焼型の脂肪細胞へと性質を逆転させ、肥満の予防に有効な手段となり得るため、世界的にも注目を集めている研究分野の一つである。これまでに、M2マクロファージがTGF $\beta$ を介して前駆脂肪細胞の増殖・分化を抑制し、M2マクロファージ除去後の脂肪組織では、脂肪細胞が増加することを明らかにしてきた。ここでは、ベージュ脂肪細胞の前駆細胞もM2マクロファージ除去後に増殖が亢進し、その結果、ベージュ脂肪細胞が増殖するのを明らかにするため、遺伝子改変マウスのM2マクロファージを除去した後に寒冷刺激を加えて明らかにする。さらに、肥満の2型糖尿病モデルマウスにおいてもM2マクロファージの除去でベージュ化の促進が起こるのか、また耐糖能やインスリン抵抗性の改善が起こるのかを確認する。

また、ベージュ化の亢進にはM2マクロファージが必須であるかをM2マクロファージが欠損したマウスを作製し、それらに寒冷刺激を施すことで、ベージュ化に対するM2マクロファージの必要性を検討する。

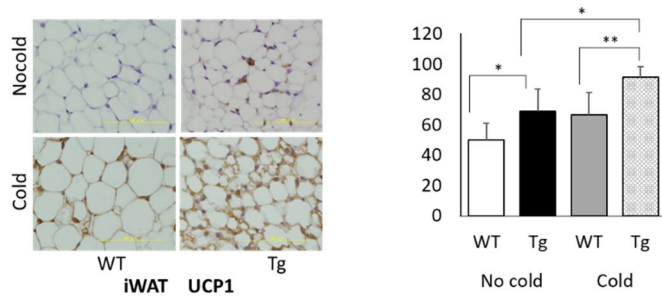
### 3．研究の方法

M2マクロファージを任意のタイミングで除去できる遺伝子改変マウスのM2マクロファージを減少させ、寒冷刺激を96時間行い、その間の体重や摂餌量を測定する。96時間寒冷刺激をした後、組織重量（内臓脂肪組織、皮下脂肪組織、褐色脂肪組織、肝臓）の重量を測り、組織所見、免疫染色法、遺伝子発現量、フローサイトメトリーにより、ベージュ化の亢進を評価する。肥満の遺伝子改変マウスにおいても同様の操作を行う。

M2マクロファージはベージュ化に必須であるかを検討するためには、M2マクロファージが欠損したノックアウトマウスを作製して検討を行う。ノックアウトマウスに寒冷刺激を96時間行い、その間の体重や摂餌量を測定する。96時間寒冷刺激をした後、組織重量（内臓脂肪組織、皮下脂肪組織、褐色脂肪組織、肝臓）の重量を測り、組織所見、免疫染色法、遺伝子発現量、フローサイトメトリーにより、ベージュ化の亢進の有無を評価する。

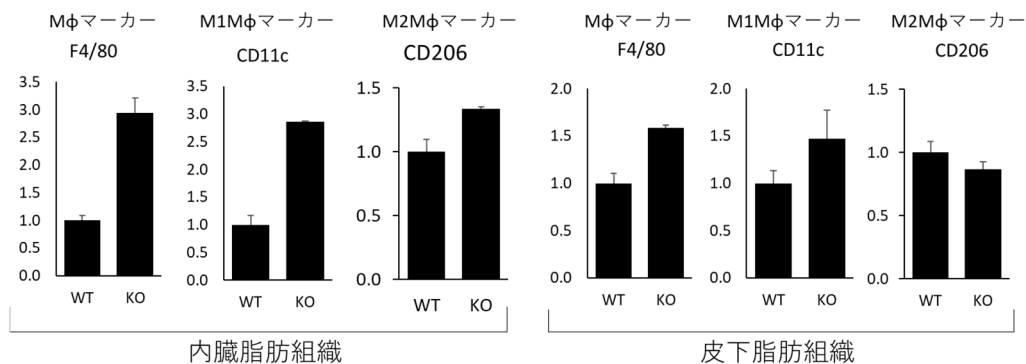
### 4．研究成果

M2 マクロファージを除去したマウスに寒冷刺激を施すと、基礎代謝が高まり、インスリンの効きが改善することを明らかとした。これは、現在世界的に争点となっている、M2 マクロファージが放出するカテコラミンがベージュ化の亢進に働くという定説を覆すものであり、M2 マクロファージを介した新たな分子機構を見出し、新たなメカニズムを持つ治療薬の開発に繋がる期待を有する。



遺伝子改変マウスに寒冷刺激を施した結果、野生型と比較して、ベージュ前駆脂肪細胞の増殖が誘導されることを確認した。高脂肪食を負荷した肥満の遺伝子改変マウスにおいても、M2マクロファージ除去後に寒冷刺激を施した結果、野生型と比較して有意に耐糖能の改善、インスリン抵抗性の改善が起こることを確認した。これらの結果は、肥満を有する糖尿病の治療法や肥満の予防策として、M2マクロファージの除去と寒冷刺激の併用によるベージュ脂肪細胞の活性化が効果的であることを示す結果となった。

ベージュ化の亢進に M2 マクロファージが必須であるかを検討するため、M2 マクロファージの発現がなくなるノックアウトマウスの作製を行ったが、このマウスには野生型と同等の M2 マクロファージマーカーである CD206 の遺伝子発現が確認できた。このため、ベージュ化に M2 マクロファージが必要であるかの検討には、今後、他の実験方法を検討する必要がある。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|