

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08559

研究課題名(和文) 褐色脂肪細胞活性調節におけるマクロファージの役割の解明

研究課題名(英文) Roles of Macrophages on Brown Adipose Tissue Function in Obese Mice.

研究代表者

瀬ノ口 隆文 (Senokuchi, Takafumi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特任講師

研究者番号：00530320

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)：スカベンジャー受容体プロモーター制御下にCDK阻害因子p27kip発現を誘導したM² 特異的増殖抑制マウス(Tg群)を作成し、高脂肪食を10週間負荷後、20週齢で常温にて組織採取した。M² 増殖抑制により、肥満によって引き起こされる褐色脂肪の白色脂肪化が抑制され、M2/M¹が増加した。20週齢で4、24時間の寒冷刺激後に褐色脂肪組織(BAT)を採取した。寒冷刺激により褐色脂肪のM²は増加し、炎症関連因子の発現は著明に増加した。寒冷刺激により増加するUCP-1等のエネルギー代謝関連遺伝子の発現はM²増殖抑制によって減少した。

M²の数の制御による褐色細胞組織の機能制御の可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

褐色脂肪組織におけるマクロファージの浸潤・増殖を制御することによる、全身のエネルギー代謝、インスリン抵抗性への影響を検討することで、褐色脂肪組織のエネルギー代謝を介した肥満、インスリン抵抗性の発症機序におけるマクロファージの果たす役割を明らかにする。さらに、インスリン抵抗性、肥満に対し、マクロファージ機能の制御が褐色脂肪組織の活性化調節を介した新たな治療法の開発につながる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：To verify the evidence of involvement of local macrophage proliferation on brown adipose tissue function in obese mice, we have generated transgenic mice whose macrophage proliferation is specifically suppressed by cyclin dependent kinase inhibitor, p27kip (Tg), and fed High-Fat Diet for 10 weeks. In the brown adipose tissue of Tg, less white adipocyte-like lipid storage cell (Whitening of brown adipocytes) induced by obesity was observed, and anti-inflammatory M2 macrophage ratio was increased. Cold exposure at 4 degrees for 24 hours resulted in increase of macrophage numbers and inflammatory response in brown adipose tissue. The increase of UCP-1 mRNA expression in brown adipose tissue is suppressed by macrophage growth inhibition. These results suggested that regulation of the number of macrophages in brown adipose tissue could control its thermogenesis function, and possibly be one of the therapeutic targets for obesity-related metabolic disorders.

研究分野：代謝疾患

キーワード：メタボリックシンドローム マクロファージ 褐色脂肪組織

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームは、過食、肥満によって引き起こされるインスリン抵抗性を病態の基盤とし、致死的な動脈硬化性疾患(心血管疾患、脳血管疾患)の危険因子である。メタボリックシンドローム患者の増加は社会的に深刻な問題であり、病態の解明および新たな治療法の開発は重要な研究課題である。

インスリン抵抗性は組織におけるインスリン作用の減弱と捉えられ、特に白色脂肪組織の慢性炎症が病態の中心を成すことが知られる。脂肪組織には白色脂肪組織と褐色細胞組織が存在する。白色脂肪組織は、内臓脂肪および皮下脂肪として余分なエネルギーを蓄積するのに対し、褐色脂肪組織は、エネルギーを消費する作用を持ち、エネルギー代謝、体温の維持に関与する。寒冷暴露などにより活性化し、エネルギー代謝を亢進させ、その活性化は肥満やインスリン抵抗性に対して予防的な効果を持つことが注目されている。これまでの研究から、高脂肪食負荷など過剰エネルギーの負荷によって白色脂肪細胞様の細胞質内に脂肪を大量に蓄積したあたかも白色脂肪細胞のような大型の脂肪細胞が出現し、この現象は褐色脂肪細胞組織の白色脂肪化(Whitening)と呼ばれる。褐色脂肪細胞の白色化は褐色脂肪細胞の機能低下との関連が示唆されている。白色脂肪組織への単球・マクロファージの浸潤は脂肪組織の慢性炎症、インスリン抵抗性発現に中心的な役割を果たす。高脂肪食負荷などの過剰エネルギー負荷により褐色脂肪組織においても、マクロファージの浸潤を認めることが報告されている。

しかしながら、褐色脂肪組織においてはこれらの浸潤マクロファージの褐色脂肪組織機能に対する意義やマクロファージの制御による病態改善の可能性は十分に検討されていない。

2. 研究の目的

褐色脂肪組織におけるマクロファージの浸潤・増殖を制御することによる、全身のエネルギー代謝、インスリン抵抗性への影響を検討することで、褐色脂肪組織のエネルギー代謝を介した肥満、インスリン抵抗性の発症機序におけるマクロファージの果たす役割を明らかにする。さらに、インスリン抵抗性、肥満に対し、マクロファージ機能の制御が褐色脂肪組織の活性化調節を介した新たな治療法の開発につながる可能性を示すことを目的とする。

3. 研究の方法

褐色脂肪組織におけるマクロファージの数の制御による褐色脂肪組織の炎症、全身のインスリン抵抗性、エネルギー代謝に対する効果を検討する。特に、褐色脂肪細胞の白色化および機能障害に対するマクロファージの影響を検討し、マクロファージの制御による褐色脂肪細胞の機能への効果を検討する。

マクロファージ特異的増殖抑制マウス (mac-p27 Transgenic マウス、以下 Tg マウス) に normal chow または HFD (60% kcal fat) を負荷し、20 週齢で 16 時間の絶食後に常温で組織採取した。

1) 褐色脂肪組織の組織学的検討：HE 染色、免疫染色

2) マクロファージ増殖のおよび M1/M2 比の評価：FACS

20 週齢で 24 または 4 で 24 時間の寒冷刺激後に褐色脂肪組織(BAT)を採取した。

1) エネルギー代謝マーカー、炎症性関連因子：RT-PCR

4. 研究成果

・マクロファージ増殖抑制により、肥満によって引き起こされる褐色脂肪の白色脂肪化が抑制された。

・褐色脂肪組織のマクロファージは増殖率が低いものの、増殖抑制によりマクロファージの M1/M2 比は低下し、褐色脂肪組織に存在するマクロファージは炎症抑制的な極性に誘導された。

・寒冷刺激により褐色脂肪のマクロファージは増加した。

・寒冷刺激による褐色脂肪における炎症関連因子の発現は高脂肪食負荷下では著明に増加した。

・寒冷刺激により増加する UCP-1 をはじめとするエネルギー代謝関連遺伝子の発現はマクロファージ増殖抑制によって減少した。

マクロファージの数の制御による褐色細胞組織の機能制御の可能性を示唆する結果であったが、褐色脂肪組織に存在するマクロファージ数及びマクロファージの炎症活性と、褐色脂肪組織の活性との関連を明らかにすることには至らず、さらなる検討が必要である。

今後の課題として、治療法開発につながる褐色脂肪組織におけるマクロファージの数の制御法を探索する。マクロファージ増殖抑制に加え、UCP-1 - Cre を用いた褐色脂肪特異的 MCP-1 欠損により、褐色脂肪組織へのマクロファージ浸潤を抑制することで、褐色脂肪組織におけるマクロファージの役割をより明らかにすることで、マクロファージ数の制御の意義をさらに追及する。

寒冷刺激および高脂肪食負荷により増加する褐色脂肪組織マクロファージの極性他、性質を明らかにするために、寒冷刺激後の褐色脂肪組織、白色脂肪組織のマクロファージを単離し、遺伝子発現の違いを網羅的に検討する。網羅的遺伝子発現の結果より、特異的な分子について Flow-cytometry を用いた解析で WAT および BAT のマクロファージ表現型、機能の違いを明らかにする。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 史玉丹、瀬ノ口隆文、前田沙梨恵、守田雄太郎、和田敏明、古荘達哉、梶原伸宏、福田一起、石井規夫、松村剛、荒木栄一
2. 発表標題 長期高脂肪食負荷マウスにおける肝線維化に対するマクロファージ増殖の影響の検討
3. 学会等名 第72回日本体質医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 和田敏明、瀬ノ口隆文、前田沙梨恵、守田雄太郎、古荘達哉、史玉丹、梶原伸宏、花谷聡子、福田一起、石井規夫、松村剛、荒木栄一
2. 発表標題 アポ E 欠損マウスの動脈硬化進展に及ぼす酢酸酸の影響
3. 学会等名 第54回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shi Y, Senokuchi T, Yamada S, Morita Y, Wada T, Furusho T, Kazihara N, Fukuda K, Ishii N, Matsumura T, Araki E.
2. 発表標題 Impacts of Local Macrophage Proliferation on Atherosclerotic Plaque Progression and Insulin Resistance in Obesity-associated Adipose Tissue.
3. 学会等名 19th International Symposium on Atherosclerosis. (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (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
---------	---------