

令和 6 年 5 月 8 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19516

研究課題名（和文）細胞共生による細胞の生存と機能変容の分子機序解明

研究課題名（英文）Cellular community in survival and pathology

研究代表者

眞鍋 一郎（Manabe, Ichiro）

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：70359628

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、異なる種類の細胞が共生することによって、生存するだけでなく、密接なコミュニケーションによって固有の機能を獲得する可能性と、その機序について検討した。マクロファージと心筋細胞やがん細胞を同時に培養することにより、通常生存が維持できない環境でも生存すること、また、細胞機能が大きく変わることを見出した。マクロファージは心筋細胞との共培養では心臓マクロファージらしさを、がん細胞との共培養ではがんの増殖を進めるタイプのマクロファージとなることを見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マクロファージは組織に応じて大きく異なる機能を獲得する。本研究では、マクロファージと組織の細胞との間の密接なコミュニケーションが、マクロファージに固有の機能を付加すること、またこの時、両者の間で細胞生存についても必須の相互作用が生まれることを見いだした。がんにおいては、免疫を阻害して、がんの増殖を進めるような機能を獲得することを見いだした。本研究で得られた成果は、全く新しい治療法開発へと発展する可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：This study investigated whether coculture of different cell types enables survival and cellular maturation through close communication. By co-culturing macrophages with cardiomyocytes and cancer cells, we found that macrophages can survive in an environment where survival is normally not possible, and that their cellular functions are significantly altered. We found that macrophages become cardiac macrophage-like when co-cultured with cardiomyocytes, and become a type of macrophage that promotes cancer growth when co-cultured with cancer cells.

研究分野：循環器内科学

キーワード：共生 マクロファージ がん 心臓

1. 研究開始当初の背景

マクロファージは環境に応じて極めて多彩な形質や機能を発揮する。我々はこれまでに、マクロファージが心臓、腎臓、膵臓、脂肪組織等の慢性炎症と組織機能障害をリードする (Nat Med 2009, Nat Commun 2019,等) だけでなく、組織の恒常性も維持することを明らかにしてきた。例えば、心臓組織マクロファージは心臓圧負荷への適応的な応答に必須であり (Nat Med 2017)、正常な刺激伝導 (Nat Commun 2021) や心筋エネルギー代謝 (投稿準備中) を維持している (図1)。マクロファージの多彩な機能は、環境に応じて遺伝子発現を変動させるダイナミックなエピジェネティック制御によってもたらされると考えられる。一方、マクロファージ機能と細胞代謝の制御機序も密接に関連している。我々は長鎖非コードRNA *lncFAO* が、マクロファージの脂肪酸代謝を亢進させ、マクロファージに炎症収束活性を誘導することを見いだした (PNAS 2020)。細胞代謝は栄養素等の代謝微小環境と直接つながっている。従って、細胞代謝とエピゲノムの連動機序は代謝微小環境に応じた機能制御の鍵となっている可能性が高い。

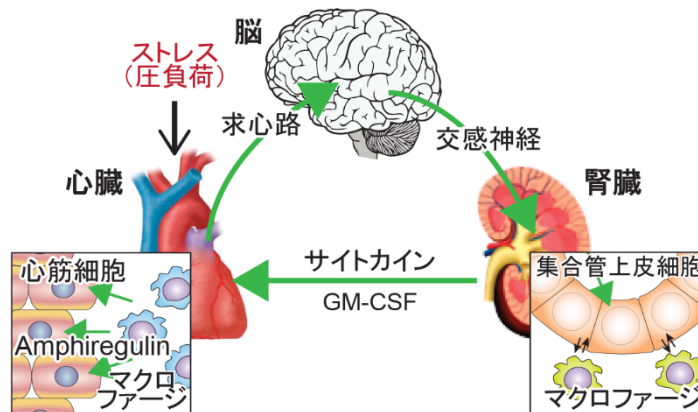


図1 心臓-脳-腎臓ネットワークによる心臓恒常性維持 心臓へのストレスは脳→交感神経により腎臓からの GM-CSF を介して、心臓マクロファージを活性化する。心臓マクロファージは Amphiregulin を分泌して心臓を保護する。

心臓マクロファージは心保護因子 Amphiregulin (*Areg*) 遺伝子を発現する。*Areg* は他のマクロファージでは発現がほとんど認められないことから、心臓の微小環境が心臓マクロファージに固有のエピゲノムを誘導すると考えられる。しかし、その誘導メカニズムは全く分かっていない。一方、がん組織においては、マクロファージはがんの増殖を促すようにも、逆にがんを抑制するようにも機能するが、このような多彩な機能を獲得するメカニズムは分かっていない。

2. 研究の目的

我々は微小環境とマクロファージ多様性をつなぐ機序の研究を進めてる中で、マクロファージと心筋細胞あるいは LL/2 肺がん細胞との共生が、両者の遺伝子発現の変容をもたらすことを見いだした。相互作用は双方向性であり、密接な関係から細胞が共生関係を構築していると考えられた。また共生により、組織で求められる機能を協調的に獲得することが示唆された。そこで、本研究では、異種細胞間の共生が、組織を構成する多細胞の協調・調和による恒常性の維持や、細胞の生存と増殖の基盤となっていると考え、共生の機序と組織の恒常性あるいは病態における意義を明らかにすることを目指す。

3. 研究の方法

本研究では異種細胞の共生が細胞集団の生存と細胞機能の変容をどのようにもたらすのか、細胞共生の機構が個体の中でも機能しているのか、細胞共生が組織の恒常性あるいは病態にどのように寄与するのかについて、下記三項目の観点で並行して研究を進める。

(1) 細胞共生を仲介する機序の解明

共生細胞の双方向的相互作用についてサイトカイン等のメディエータと代謝物との両面から解析し、共生を仲介する機序を明らかにする

(2) 共生と細胞機能変容をもたらすエピゲノム制御

共生による遺伝子発現のドラスティックな変換を司る転写・エピジェネティクス制御機序について検討する。共培養による変化が様でない可能性が高いため 1 細胞レベルの解析技術を活用する。

(3) 個体における細胞共生の検証と細胞共生による組織恒常性維持と病態形成機序の解明

共生による細胞機能変容が組織の恒常性と病態の両面で重要な役割を持つ可能性が高い。そこで、心臓やがん組織において、上記項目で同定した細胞共生のシグナル・代謝・エピジェネティクス機序を検討し、臓器においても細胞共生の機序が機能していることを解析する。

4. 研究成果

骨髄由来マクロファージ (Bone marrow-derived macrophages, BMDM) とマウス新生仔心筋細胞との共培養系を構築した。この共培養によって BMDM が心臓組織マクロファージに類似する形質を獲得することをシングルセル RNA-seq によって見いだした (図 2)。さらに、心臓線維芽細胞も含む 3 種の細胞のシングルセル RNA-seq 解析から、これらの細胞が密接なコミュニケーションを行っていること、このような多種細胞種間コミュニケーションに基づく共生と協調が、心臓細胞らしさをもたらし心臓細胞社会を構築する (図 3) ことによって、恒常性を維持することが示唆された。

一方、BMDM と LL/2 肺がん細胞との共培養でも、両者において大きく遺伝子発現の変動が誘導された (図 4)。以上のように、BMDM は共培養により、大きく遺伝子発現と機能を変化させること、また機能発現変化する遺伝子は共培養する細胞によって異なることが明らかとなった。従って、細胞種の組み合わせによりそのコミュニケーションのメディエータや影響は異なると考えられる。図 3 で示されるように、共培養によって BMDM ではシグナルを受容する活性が顕著に上昇することから、共生とは密接な細胞間コミュニケーションの成立であることも示唆される。

本研究では、マクロファージが共培養によって大きく形質を変えることを見いだした。そのコミュニケーションを仲介するメディエータの探索も行い、マクロファージと肺がん細胞とのコミュニケーションは一部代謝産物が担うこと、つまり代謝共生が重要であることを見いだしている。今後さらに共生の分子機序を明らかにすることにより、組織の中の細胞の形質や機能を制御する標的が同定できる可能性が高い。このような細胞共生の機序は、全く新しい治療標的となる可能性が高い。

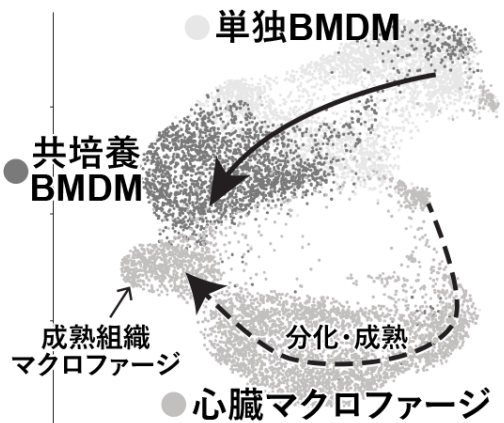


図 2 細胞間コミュニケーションによるマクロファージの教育 骨髄由来マクロファージ(BMDM)単独培養と心筋細胞との共培養、マウス心臓マクロファージのシングルセル RNA-seq 解析結果。共培養により BMDM は心臓組織マクロファージに類似する。

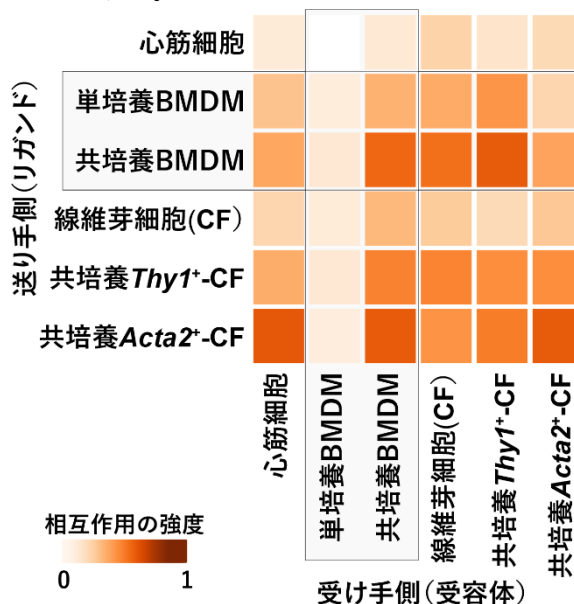


図 3 細胞間コミュニケーションによる細胞形質の成熟 共培養におけるマクロファージ (BMDM)、心筋細胞、心臓線維芽細胞(CF)のコミュニケーションの強度を示す。BMDM では共培養によりシグナルの送り手としての機能と共に、特に受け手としての活性が顕著に上昇する。線維芽細胞でもコミュニケーションの活性化が認められ、細胞間コミュニケーションと心臓組織における形質獲得は連携している。

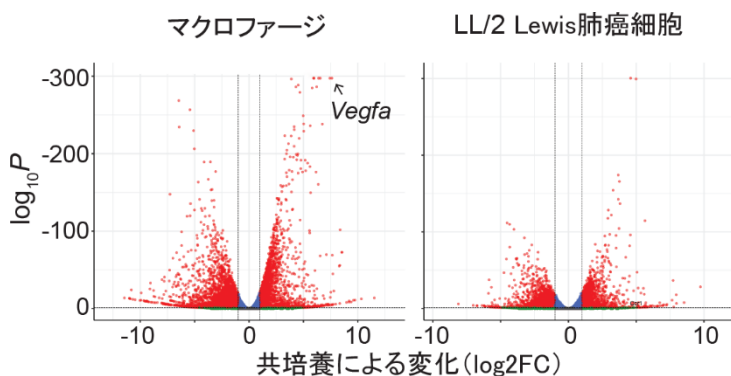


図 4 細胞共生はドラスティックな遺伝発現変容をもたらす 共生後のマクロファージとがん細胞の RNA-seq の volcano plot を示す。発現変動した遺伝子が赤の点で示されている。マクロファージでは血管新生を促進する VEGF-A の発現が強力に誘導されており、がんの増殖に寄与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Watanabe Aiko, Koike Hiroyuki, Kumagami Naoki, Shimba Shigeki, Manabe Ichiro, Oishi Yumiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Arntl deficiency in myeloid cells reduces neutrophil recruitment and delays skeletal muscle repair	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-33830-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Oishi Yumiko, Koike Hiroyuki, Kumagami Naoki, Nakagawa Yoshimi, Araki Masaya, Taketomi Yoshitaka, Miki Yoshimi, Matsuda Shigeru, Kim Hyeree, Matsuzaka Takashi, Ozawa Hitoshi, Shimano Hitoshi, Murakami Makoto, Manabe Ichiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Macrophage SREBP1 regulates skeletal muscle regeneration	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 2023.125178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2023.1251784	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hayakawa Sumio, Tamura Atsushi, Nikiforov Nikita, Koike Hiroyuki, Kudo Fujimi, Cheng Yinglan, Miyazaki Takuro, Kubekina Marina, Kirichenko Tatiana V., Orekhov Alexander N., Yui Nobuhiko, Manabe Ichiro, Oishi Yumiko	4. 巻 7
2. 論文標題 Activated cholesterol metabolism is integral for innate macrophage responses by amplifying Myd88 signaling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e138539
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.138539	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Cheng Yinglan, Manabe Ichiro, Hayakawa Sumio, Endo Yusuke, Oishi Yumiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Caspase-11 contributes to site-1 protease cleavage and SREBP1 activation in the inflammatory response of macrophages	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2023.1009973	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://plaza.umin.ac.jp/manabe/>

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
---------	---------