

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 8日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2012

課題番号：24659382

研究課題名（和文） 脂肪組織炎症におけるマクロファージトラフィッキングの分子機序解明

研究課題名（英文） Macrophage trafficking in adipose tissue inflammation

研究代表者

眞鍋 一郎 (MANABE ICHIRO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70359628

研究成果の概要（和文）：脂肪組織は肥満によって活発な炎症を生じる。この時、マクロファージの性質が大きく変動する。このマクロファージ変動の機序として、マクロファージのトラフィッキングを検討した。脂肪組織におけるマクロファージの集積と退出をフローサイトメトリーで追跡する手法を確立した。また、退出の刺激を同定した。マクロファージの移動に S100 蛋白が重要であることを見いだした。

研究成果の概要（英文）：Obesity induces active inflammatory processes in adipose tissue. In these processes macrophages alter their phenotypes and act as central effector cells. To elucidate the molecular mechanisms underlying the changes in macrophage phenotypes, this study focused on the macrophage trafficking to and from adipose tissue. We developed a novel method to analyze trafficking of adipose tissue macrophages and identified factors that promote the egression of macrophages. We also identified S100 proteins as a regulator of macrophage trafficking.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

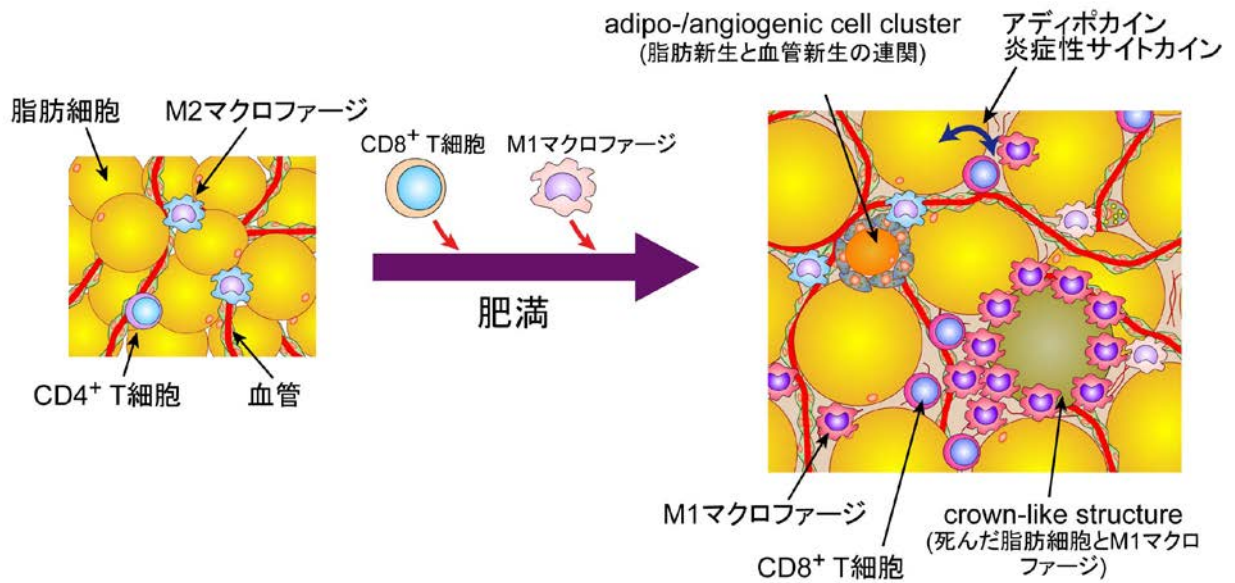
キーワード：マクロファージ、炎症、脂肪

1. 研究開始当初の背景

我々は、脂肪組織肥満が脂肪組織の炎症を惹起すること、さらに、脂肪組織炎症が全身的な代謝異常の基盤となることを報告してきた。脂肪組織炎症においては、特にマクロファージが主要なエフェクター細胞として重要である。マクロファージは最近、多様な活性と形質を示すことが明らかとなっている。特に、M1 と M2 という分類がよく使われる。培養マクロファージでは、Th1 サイトカインや微生物構成成分により M1 型活性化 (classical activation) が誘導される。M1 型マクロファージは高レベルの炎症性サイトカインや活性酸素種 (ROS) を産出し、Th1 応答

を進め、細胞傷害や炎症を促進する。また、微生物殺傷作用と抗腫瘍作用を示す。これに対して、Th2 サイトカイン (IL-4、IL-13) は M2 型活性化 (alternative activation) を誘導する。M2 型マクロファージは寄生虫感染で働くとともに、組織リモデリングを推進する。また、腫瘍の進展をむしろ促進するとともに、免疫制御作用を示す。

脂肪組織では、肥満に伴って、M2 型マクロファージから M1 型炎症性マクロファージに、マクロファージの活性の極性が変わる。この極性変化は、新たな M1 型マクロファージの集積に加えて、元々存在する M2 型マクロファージの活性変化、さらに、M2 型マク



マクロファージの退出(egression)等のメカニズムが考えられるが、M1 マクロファージの集積以外の分子機序についてはほとんど分かっていない。M1 マクロファージ集積についても、MCP-1 を始めとするケモカインの寄与が報告されているが、従来同定されたケモカインだけでは不十分なことも分かっており、その詳細なメカニズムは明らかではない。

我々は、肥満脂肪組織で S100A8 が増加することを見いだした。このことは、S100A8 が脂肪組織炎症や、マクロファージのトラフィッキングに寄与する可能性を示唆する。

一方、遊離脂肪酸が、急速に組織マクロファージの退出を促すことを見いだした。

以上の予備的検討を基に、肥満脂肪組織におけるマクロファージトラフィッキングの制御機構について検討を行うことを目的とする。

2. 研究の目的

脂肪組織炎症において、M2 型組織マクロファージの退出と M1 マクロファージ集積によるマクロファージ極性の変化が生じるといふ仮説を検証するとともに、その分子機序についても検討する。

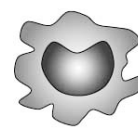
3. 研究の方法

本研究計画では、脂肪組織炎症を惹起・推進する M2 型組織マクロファージから M1 炎症性マクロファージへの極性の変転について、①組織マクロファージの退出(egression)、②M1 マクロファージ集積の両面から検証する。さらに、マクロファージ egression の経路や機序の検討を行う。そのために、マクロファージの移動を追跡できる方法を確立する。

また、S100A8 の機能について、in vitro、in vivo の両面から検討を進める。



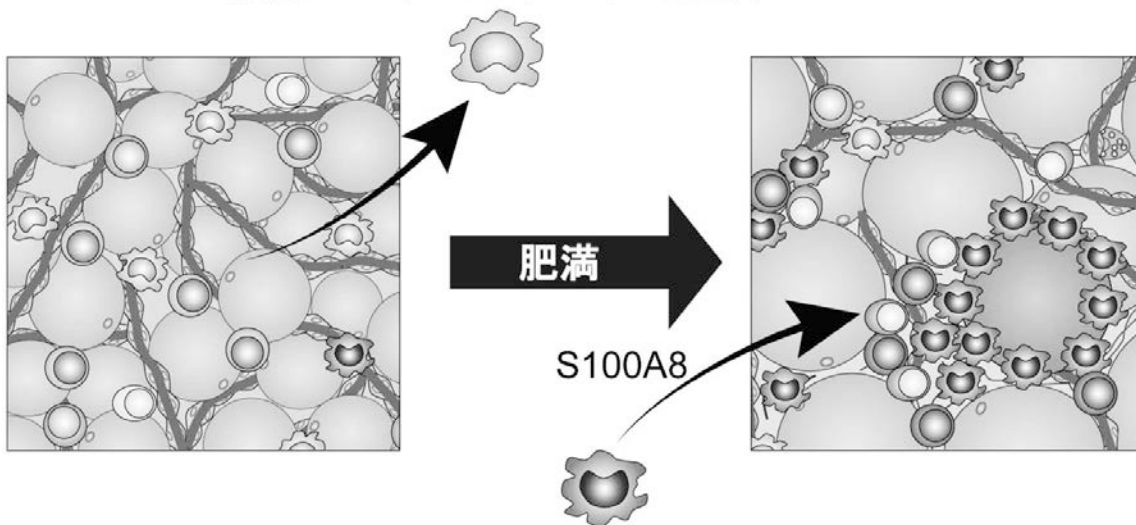
常在M2型マクロファージ
炎症抑制・恒常性維持



M1炎症性マクロファージ
炎症促進・インスリン抵抗性



常在M2マクロファージの退出



M1炎症性マクロファージの集積

4. 研究成果

①遊離脂肪酸によるマクロファージの集積と退出

マウス精巣上体脂肪組織（内臓脂肪）では、肥満によって、M2型マクロファージの割合が減り、M1型マクロファージの割合が増加する。遊離脂肪酸をマウスに投与すると、24-48時間以内に、M2型マクロファージの数が急速に減少し、M1型マクロファージないしは炎症性単球が増加することを見いだした。

さらに、マクロファージの移動の詳細を検討するため、蛍光色素で標識したマクロファージ、及びEGFP発現マウスから単離したマクロファージを養子移植する実験を行い、移植したマクロファージの分布を解析することに成功した。さらに、脂肪組織局所のマクロファージの標識を行うことにより、その移動を解析する方法を確立した。これらの手法によっても、遊離脂肪酸により脂肪組織の常在M2型マクロファージが減少することを確認した。

②マクロファージ退出機序の解析

上記した方法により、脂肪組織マクロファージを染色し、マクロファージの

細胞死と異動先の検討を行った。

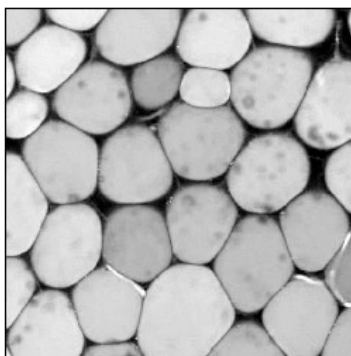
③S100A8と脂肪組織炎症

S100A8は肥満脂肪組織で発現が増加する。この機能を解析するために、脂肪細胞特異的なS100A8ノックアウトマウスを作製した。

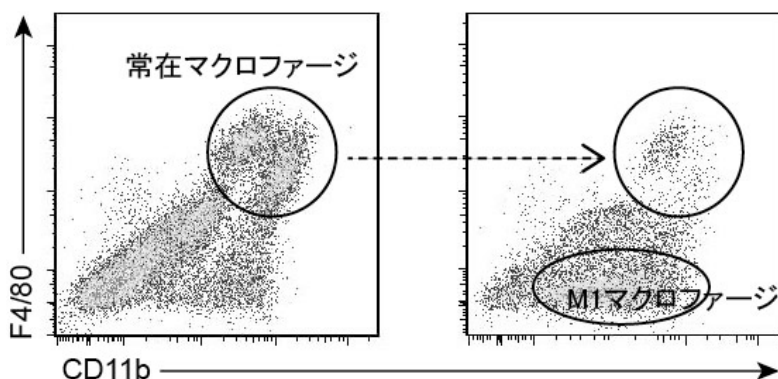
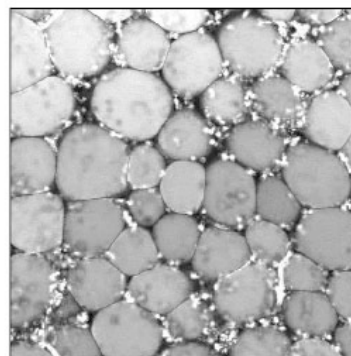
5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

コントロール



遊離脂肪酸



〔雑誌論文〕（計 1 件）

(1) Eguchi K, Manabe I, Oishi-Tanaka Y, Ohsugi M, Kono N, Ogata F, Yagi N, Ohto U, Kimoto M, Miyake K, Tobe K, Arai H, Kadowaki T, Nagai R. Saturated Fatty Acid and TLR Signaling Link β Cell Dysfunction and Islet Inflammation. *Cell Metabolism* 15:518-533, 2012.

〔学会発表〕（計 3 件）

1) Matsumoto S, Manabe I, Nagai R: Adipocyte Progenitor Cell-derived Proinflammatory Cells Link Adipocyte Hyperplasia With Adipose Tissue Inflammation American Heart Association Scientific Sessions 2012、2012年11月4-7日、Los Angeles、米国

2) Eguchi K, Manabe I, Nagai R: Inflammation Induced by Free-fatty Acid-tlr4/myd88 Signaling in Non-immune Cells Play a Pivotal Role in Both Cardiovascular and Metabolic Diseases American Heart Association Scientific Sessions 2012、2012年11月4-7日、Los Angeles、米国

3) 真鍋一郎: 脂肪組織炎症とインスリン抵抗性. シンポジウム3 慢性炎症とインスリン抵抗性. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会、2012年5月17日、横浜.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

真鍋 一郎 (MANABE ICHIRO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70359628

(3) 連携研究者

松本 佐保姫 (MATSUMOTO SAHOHIME)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：80570184

荷見 映理子 (HASUMI ERIKO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70599547