

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860587

研究課題名(和文)生活習慣病と心血管病におけるS100A8蛋白の分子機能解析と新規治療法開発

研究課題名(英文)Molecular analysis of S100A8 protein and development of new treatment for metabolic syndrome and cardiovascular disease

研究代表者

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

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)：我々は、脂肪細胞特異的S100A8ノックアウトマウスの作成・繁殖に成功し、その脂肪組織での表現型を明らかにした。また、ノックアウトマウスの脂肪組織の解析をRNAの発現やファックス解析等行うことで、S100A8の脂肪細胞やマクロファージへのシグナルに關与する因子を同定することができた。また、ノックアウトマウスのインスリン抵抗性が改善することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Previous basic and clinical studies have shown that inflammation plays an essential role in metabolic diseases as well as atherosclerosis. However, it is still unclear how inflammation is initiated in obese adipose tissue. We found that expression of S100A8 increased in obese adipose tissues. It indicated that S100A8 play a important role for inflammation in adipose tissue. Since, we created S100A8 knockout mice to investigate the role of S100A8 in obese tissue. S100A8 knockout mice showed lower insulin sensitivity relative to foxed mice. This result suggested that S100A8 have a possibility of improving glucose homeostasis.

研究分野：循環器内科

キーワード：S100A8 アディポカイン メタボリックシンドローム 脂肪組織炎症

1. 研究開始当初の背景

臓器局所での慢性的な炎症が糖尿病や動脈硬化の基盤病態であることが明らかとなってきている。我々のグループでは、肥満した脂肪組織自体にも活発な炎症状態が惹起され、インスリン抵抗性を生じることを示してきた(*J Clin Invest* 118:710, *Diabetes* 56:1517)。また、肥満組織で脂肪細胞の間質に CD8 陽性 T 細胞が現れた後、マクロファージが集簇し、炎症が惹起されることを明らかにした(*Nat Med* 15:914)。しかし、未だに脂肪組織で炎症を誘導する最初期のメカニズムは不明であり、何が免疫細胞を最初にリクルートするかも明らかではない。最近の報告では、自然免疫において中心的な受容体である Toll-like receptor 4(TLR4)を介したシグナルがメタボリック症候群や動脈硬化の病態に重要であることが示されている。そこで我々は、TLR4の内因性リガンドとして報告されている S100A8 蛋白に着目した。S100A8 は好中球から分泌され、マクロファージの遊走を惹起することが膠原病などの炎症性疾患において報告されている。申請者は、高脂肪食食餌による肥満マウスの内臓脂肪で S100A8 の発現が上昇し、特に脂肪細胞で選択的に発現していることを見いだした(図 1・図 2)。この結果は、S100A8 が新規アディポカイン(脂肪由来生理活性分子)であることを示唆する。また、S100A8 はマクロファージの遊走を刺激することを見いだした(図 3)。さらに、肥満の際に血中濃度が増加する遊離脂肪酸であるパルミチン酸が、脂肪組織で S100A8 発現を誘導し、それに遅れてマクロファージが脂肪組織に集積することが分かった(図 4)。以上の結果より、S100A8 は脂肪組織にマクロファージを遊走させるアディポカインであると考えられる。そこで、S100A8 の脂肪組織炎症における制御機構について、特に肥満での発現誘導機構を解析する。さらに、S100A8 及びその制御機構が、メタボリック症候群や心血管疾患の治療標的となり得るかどうかを検討した。

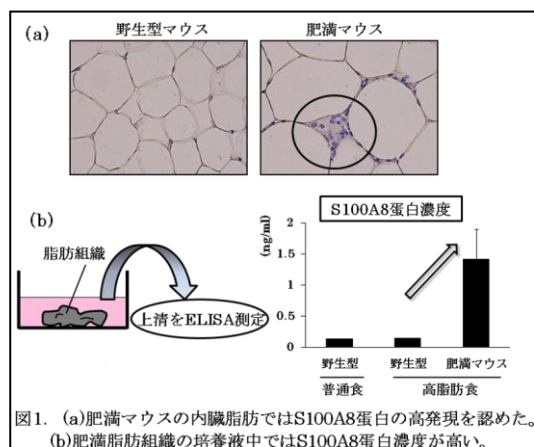


図1. (a)肥満マウスの内臓脂肪ではS100A8蛋白の高発現を認めた。(b)肥満脂肪組織の培養液中ではS100A8蛋白濃度が高い。

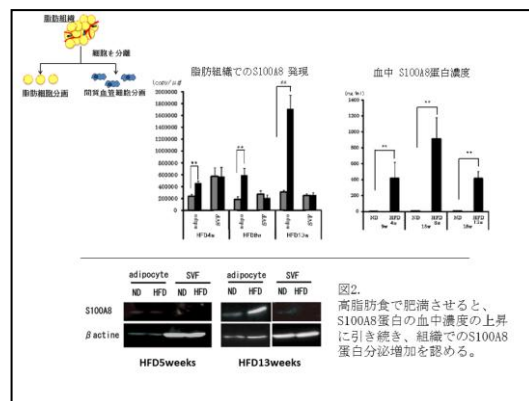


図2. 高脂肪食で肥満させると、S100A8蛋白の血中濃度の上昇に引き続き、組織でのS100A8蛋白分泌増加を認める。

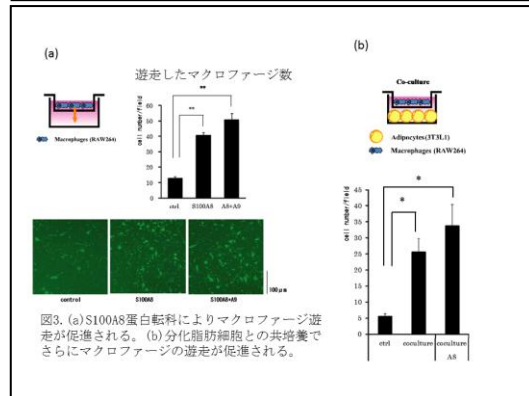


図3. (a)S100A8蛋白転写によりマクロファージ遊走が促進される。(b)分化脂肪細胞との共培養でさらにマクロファージの遊走が促進される。

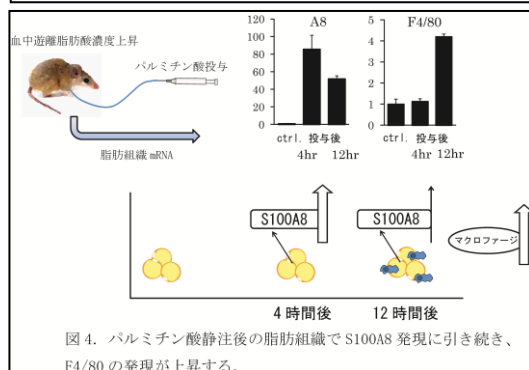


図4. パルミチン酸静注後の脂肪組織で S100A8 発現に引き続き、F4/80 の発現が上昇する。

2. 研究の目的

肥満脂肪組織における慢性炎症が糖尿病や動脈硬化の発症原因であることが明らかになってきた。我々は、肥満脂肪細胞で分泌蛋白である S100A8 の発現が増加し、炎症細胞をリクルートさせることを見いだした。この結果は、S100A8 が脂肪組織炎症を惹起する新規アディポカインである可能性を示唆する。本研究ではメタボリックシンドローム及び心血管疾患における S100A8 の機能を明確にする。そのため、どのように S100A8 が脂肪組織炎症を惹起するかを明らかにすることを目的として研究をおこなった。

3. 研究の方法

本研究計画では、S100A8 蛋白の機能に着目し、組織の慢性炎症・リモデリングの観点から肥満やメタボリックシンドロームの病態解明を行った。S100A8 を介するより詳細な慢性炎症プロセスを惹起する分子機構について解析を進めた。また、S100A8 ノックアウトマウスを用いて、生体内での S100A8 蛋白のインスリン抵抗性などのメタボリック

シンドローム発症への役割を明らかにするとともに、病態機序の解明を行った。

4. 研究成果

メタボリック症候群の基盤となる脂肪組織での炎症惹起機序を明らかにするため、以下の項目を検討した。

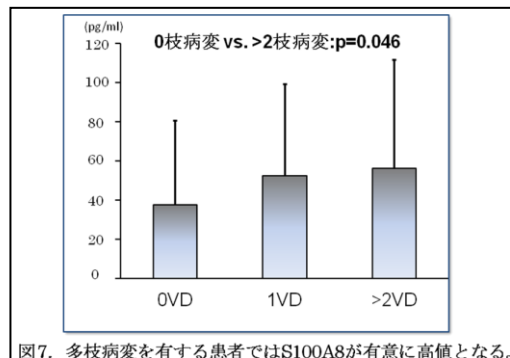
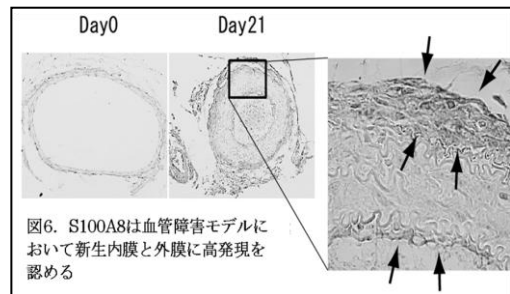
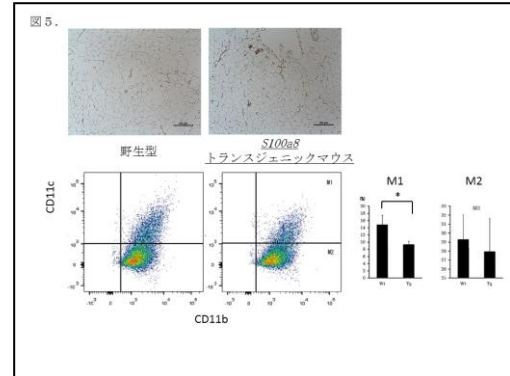
1) S100A8 の肥満脂肪組織での炎症惹起機能と全身代謝・心血管病態への影響の検討

S100a8 遺伝子を脂肪細胞で特異的に発現するトランスジェニック (Tg) マウス (Ap2-S100a8) を作製した。高脂肪食を食餌させた Tg マウスの脂肪組織を野生型マウスと比較すると、Tg マウスでは M1 マクロファージの集積低下を認め(図 5)、炎症性サイトカインの発現 (MCP-1) が低下した。肥満により S100a8 が脂肪組織にマクロファージの遊走を促すものの、炎症反応は改善が見られた。また、我々は脂肪細胞特異的 S100a8 ノックアウトマウスを作製に成功しており、高脂肪食負荷で脂肪組織での M1 マクロファージが野生型と比較して増加していること、マクロファージの炎症性サイトカイン (IL-1 β 、TNF- α) の抑制されることを確認した。さらには、インスリン抵抗性の改善も認めた。このことから、S100A8 蛋白は脂肪組織炎症の保護的に作用し、これによりインスリン抵抗性改善させる可能性が示された。一方で、我々は総頸動脈結紮モデルで、新生内膜と外膜に S100a8 が高発現していることを見出している (図 6)。これは内膜肥厚巣や外膜の炎症細胞浸潤が生じている部位に S100a8 蛋白が高発現していることを示している。また、我々は冠動脈カテーテルを受けた患者の血清 S100A8 濃度を測定したところ、冠動脈疾患を有する群で有意に S100A8 血中濃度が高くなり、さらには冠動脈疾患が重症化するほど高濃度になることを明らかとした (図 7)。このことから、S100A8 が脂肪組織だけではなく、血管でも組織炎症に寄与し、動脈硬化疾患に関与する可能性を有することを示唆している。そこで、今後はマクロファージ・血管内皮特異的 S100a8 ノックアウトマウスを用いて、血管傷害への応答や動脈硬化への S100a8 蛋白の寄与を解析進めていくこととしている。また、最近では心不全の予後と血中 S100a8 濃度の関係も報告されており、大動脈縮窄モデルを用いて圧負荷心への応答も検討する予定としている。

2) S100A8 の発現制御機構の解析

脂肪組織炎症において脂肪細胞で S100a8 の発現を誘導する刺激の分子の探索を行っており、すでに脂肪細胞とマクロファージの共培養で遊離脂肪酸やサイトカイン刺激が脂肪細胞からの S100a8 の発現を上昇させることを予備実験で明らかとしている。さらに

S100a8 の発現を制御するシグナル経路の解析を進めることとしている。特に、マクロファージでの S100a8 受容体の同定を行う。従来の報告で TLR4 が S100a8 の受容体となる可能性が指摘されているが、マクロファージにおける受容体として機能しているかどうかは明確ではない。この点を検討する。



我々は、脂肪細胞特異的 S100A8 ノックアウトマウスの作成・繁殖に成功し、その脂肪組織での表現型を明らかにした。また、ノックアウトマウスの脂肪組織の解析を RNA の発現やファックス解析等行うことで、S100A8 の脂肪細胞やマクロファージへのシグナルに関与する因子を同定することができた。また、ノックアウトマウスのインスリン抵抗性が改善することが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 4 件）

1. Hasumi E, Fujii K, Imamura T, Iwata H, Sawaki D, Hosoya Y, Ando J, Kojima T, Shimizu Y, Oguri G, Matsubara T, Hatano M, Akazawa H, Watanabe M, Ono M, Komuro I. Cardiac Arrest Triggered by Subepicardial Aneurysm Without Cardiac Rupture, *Circ J*. 2016 Jan 25;80(2):538-40. doi: 10.1253/circj.CJ-15-0830. 査読有
2. Niwa R, Hasumi E, Fujii K, Uehara M, Nitta D, Hatano M, Akazawa H, Watanabe M, Issei Komuro, A case of multiple coronary artery-left ventricular micro fistulas complicated with hepatic arteriovenous fistulae, *Int Heart J*. 2016 Jan 19;57(1):123-6. doi: 10.1536/ihj.15-263. Epub 2016 Jan 6. 査読有
3. Matsubara TJ, Fujii K, Asada K, Kojima T, Hisaki M, Yamagata K, Shimizu Y, Hasumi E, Masaru H, Akazawa H, Komuro I, Direct left atrial ICE imaging guided ablation for atrial fibrillation without employing contrast medium, *Int J Cardiol*. 2016 Jan 15;203:733. doi:10.1016/j.ijcard.2015.11.038. 査読有
4. Hasumi E, Iwata H, Kohro T, Manabe I, Kinugawa K, Morisaki N, Ando J, Sawaki D, Takahashi M, Fujita H, Yamashita H, Ako J, Hirata Y, Komuro I, Nagai R, Diagnostic implication of change in B-type natriuretic peptide (BNP) for prediction of subsequent target lesion revascularization following sirolimus-eluting stent deployment. *Int J Cardiol*. 2013 Sep 30;168(2):1429-34. doi:10.1016/j.ijcard.2012.12.046. 査読有

〔学会発表〕（計 1 件）

荷見映理子、S100A8 は脂肪組織炎症の新たなメディエーターである 第 36 回日本肥満学会 2015/10/2、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

〔図書〕（計 1 件）

1. 荷見映理子、「Electrocardiography A to Z」洞不全症候群、日本医師会雑誌、医学書院、第 144 号・特別号 (2), 212-217 2015

〔産業財産権〕

- 出願状況（計 0 件）
- 取得状況（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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