

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07969

研究課題名（和文）炎症性腸疾患における鉄動態変化に基づくマクロファージ機能異常とその病態関与の解明

研究課題名（英文）Functional abnormalities of macrophages based on the alteration of iron metabolism and their involvement in the pathogenesis of inflammatory bowel disease

研究代表者

松浦 稔（Matsuura, Minoru）

杏林大学・医学部・准教授

研究者番号：30402910

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：IL-10KOマウスでは腸炎進展とともに慢性炎症に伴う鉄代謝異常を認めた。IL-10KOマウスに通常鉄餌あるいは鉄制限餌を与えた結果、鉄制限群で組織学的腸炎の軽減を認め、腸管マクロファージの細胞内鉄量は有意に低下した。鉄制限群ではM2マクロファージの増加を認め、マクロファージ細胞内鉄量がマクロファージ機能と関連する可能性が示された。細胞内鉄をキレートしたJ774細胞ではマクロファージからの炎症性サイトカイン産生が有意に低下した。以上より、慢性腸炎の進展に伴う生体内の鉄動態の変化はマクロファージの細胞内鉄量の増加と機能亢進を介してIBDの病態に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鉄がIBDの病態に関与するメカニズムとして酸化ストレスや腸内細菌を介した機序が主に報告されている。一方、生体内の鉄代謝調節の中心的分子であるhepcidinとIBDに関する報告は既にいくつか存在するが、そのほとんどは疾患活動性とhepcidin発現の関連性や炎症性貧血に関するものである。このようにIBD患者における生体内の鉄代謝異常やその病態への関与については未だ報告がなく、本研究は鉄がIBDの病態に関与する新たなメカニズムを解明する上での糸口になる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：IL-10 KO mice showed abnormal iron metabolism with the development of intestinal inflammation. IL-10 mice were fed normal or restricted iron diet. Histologic inflammation of colonic tissues in the restricted iron diet group was ameliorated compared to normal iron diet group. IL-10 KO mice fed restricted iron diet revealed a significantly lower amount of intracellular iron and a higher proportion of CD206 positive cells in intestinal macrophages compared to that of the normal iron diet group. The production of inflammatory cytokines from J774 cells chelated intracellular iron was significantly lower than that of the control group. Our findings suggest that the alteration of iron metabolism in vivo with the development of chronic intestinal inflammation is involved in the pathogenesis of IBD by enhancing macrophage function due to increased intracellular iron content.

研究分野：消化器内科学

キーワード：炎症性腸疾患 鉄代謝 マクロファージ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

鉄は細菌の増殖・生存および毒性維持に必須の元素であり、炎症性腸疾患 (IBD) の病態形成に関わる環境因子の一つとして注目されている。申請者らは、鉄負荷を受けた細菌はマクロファージに貪食された後も殺菌抵抗性を示し、マクロファージを有意に活性化させること、さらに実験大腸炎モデルを用いて経口的な鉄負荷の増大が腸炎を悪化させることを報告してきた。近年、鉄代謝制御因子 Hpcidin の発見により慢性炎症に伴う鉄代謝異常の分子メカニズムが明らかにされ、慢性炎症刺激が Hpcidin を介して体内の鉄動態を変化させ、マクロファージの機能亢進につながる事が報告されている。しかし IBD の慢性炎症に伴う鉄動態変化やその病態への関与については不明である。

### 2. 研究の目的

IBD における腸管炎症の進展に伴う鉄の体内動態の変化とそれに伴うマクロファージ機能異常および IBD の病態への関与を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) 経口的な鉄負荷の軽減に伴う慢性腸炎への影響と体内の鉄動態の変化

4 週齢の IL-10 ノックアウト (IL-10KO) マウスおよび野生型マウスに、普通飼料と同濃度の鉄を含む食餌 (通常鉄群) あるいは含有鉄濃度を減らした食餌 (鉄制限群) を 8 週間投与し、組織学的腸炎、組織鉄濃度、鉄代謝関連バイオマーカー (血清 Hpcidin、血清鉄、UIBC、血清フェリチン) を比較検討した。

(2) 腸管マクロファージ細胞レベルの鉄動態に与える影響と機能解析

IL-10KO マウスに通常鉄および鉄制限食を 8 週間投与後、大腸粘膜固有層から腸管マクロファージ (CD11b-high/Cx3CR1-high) を採取し、FerroOrange にて腸管マクロファージにおける細胞内鉄量を、また FACS にて細胞膜上の Ferroportin の発現について検討した。さらに細胞表面マーカーの発現パターンから腸管マクロファージの phenotype を解析した。

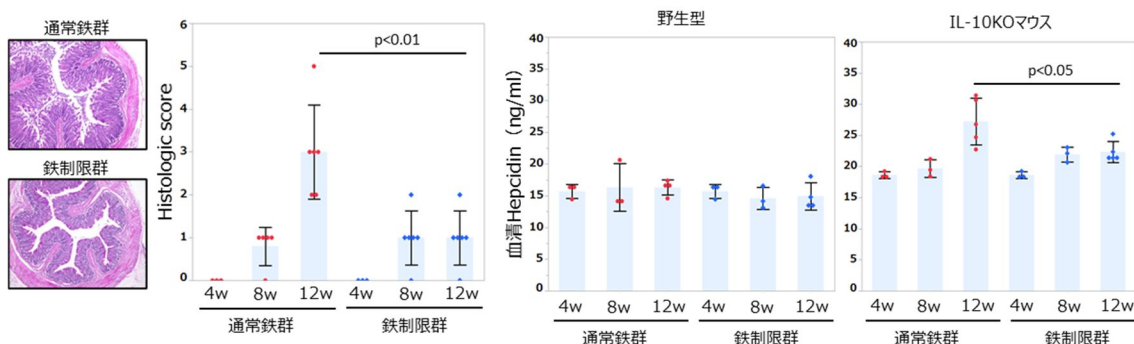
(3) マクロファージ細胞内鉄量が炎症惹起能に与える影響

Ciclopirox olamine を用いて細胞内鉄をキレートしたマウスマクロファージ細胞株 (J774) を LPS (100ng/ml) で刺激し、J774 細胞からの炎症性サイトカインの発現を比較検討した。

### 4. 研究成果

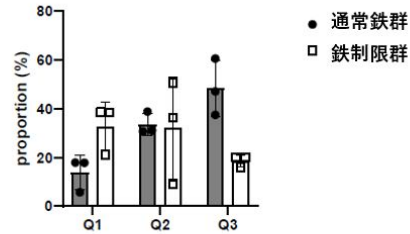
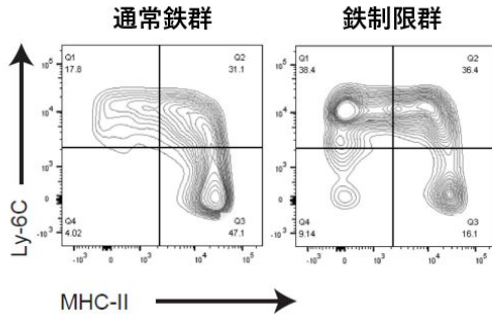
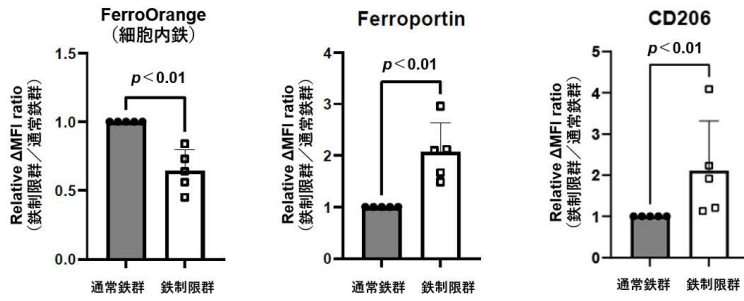
(1) 経口的な鉄負荷の軽減に伴う慢性腸炎への影響と体内の鉄動態の変化

IL-10KO マウスにおける Histologic score は通常鉄群と比較して鉄制限群で有意に低く、経口的な鉄負荷の軽減により組織学的腸炎の改善を認めた。野生型マウスと比較して IL-10KO マウスでは組織学的腸炎の進展とともに血清 Hpcidin の上昇を認めた。さらに鉄制限群の IL-10KO マウスでは慢性炎症に伴う鉄動態異常 (血清鉄上昇、UIBC 低下、血清フェリチン上昇) を認め、一方、通常鉄群では鉄欠乏所見も加わった複雑な鉄動態 (血清鉄低下、UIBC 上昇、血清フェリチン不変) を示した。しかしながら、肝臓、脾臓および大腸の各組織における鉄濃度 (microg/組織 wet 重量) には有意差を認めなかった。



(2) マクロファージ細胞レベルにおける鉄動態に与える影響と機能解析

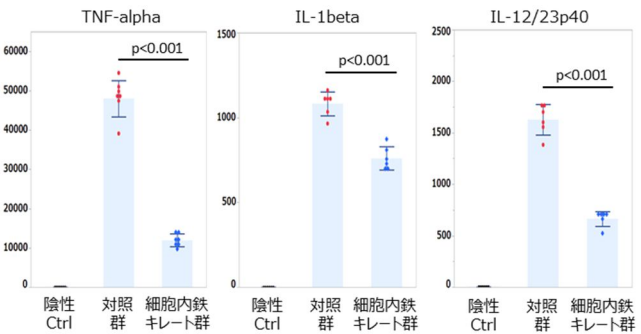
次に FerroOrange を用いてマクロファージ細胞レベルでの鉄量について検討した。その結果、通常鉄群と比べ鉄制限群で細胞内鉄量は有意に減少し、Ferroportin の発現は上昇していた。さらに腸管マクロファージに発現する細胞表面マーカーの検討では、通常鉄群に比べ鉄制限群では Ly-6C low/MHC- high を示す成熟マクロファージが減少し、CD206 陽性マクロファージの増加を認め、マクロファージ細胞内鉄量がマクロファージ活性化と関連する可能性が示された。現在、慢性腸炎の持続に伴う腸管マクロファージの細胞内鉄量の経時的変化と活性化状態について解析中である。



(3) マクロファージ細胞内鉄量が炎症惹起能に与える影響

細胞内鉄をキレートしたJ774細胞では対照群と比較して、マクロファージからの炎症性サイトカイン (TNF-alpha、IL-1beta、IL-12/23p40) の産生が有意に低下した。

以上より、IBD 動物モデルを用いた検討では慢性腸炎の進展に伴い生体内の鉄動態が変化し、マクロファージの細胞内鉄量の増加と機能亢進を介して慢性腸炎の病態に関与している可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Wagatsuma K, Yamada S, Ao M, Matsuura M, Tsuji H, Iida T, Miyamoto K, Oka K, Takahashi M, Tanaka K, Nakase H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Diversity of Gut Microbiota Affecting Serum Level of Undercarboxylated Osteocalcin in Patients with Crohn's Disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients.	6. 最初と最後の頁 E1541
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu11071541.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 辻 秀美, 幣憲一郎, 青 未空, 桑原晶子, 長嶋一昭, 山田 聡, 松浦 稔, 仲瀬裕志, 田中 清, 稲垣暢也.	4. 巻 22
2. 論文標題 新規治療薬時代におけるクローン病患者のビタミンK栄養状態.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本病態栄養学会誌.	6. 最初と最後の頁 253-257
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakajima A, Vogelzang A, Maruya M, Miyajima M, Murata M, Son A, Kuwahara T, Tsuruyama T, Yamada S, Matsuura M, Nakase H, Peterson DA, Fagarasan S, Suzuki K.	4. 巻 15
2. 論文標題 IgA regulates the composition and metabolic function of gut microbiota by promoting symbiosis between bacteria.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 2019-2034
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1084/jem.20180427.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Okabe M, Matsuura M, Kitamoto H, Yamada S, Honzawa Y, Yamamoto S, Seno H, Kishino S, Ogawa J.
2. 発表標題 HYA, a metabolite of linoleic acid by the commensal bacteria, ameliorates colonic inflammation in IL-10-deficient mice through the alteration of macrophage function.
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2019（国際学会）
4. 発表年 2019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
研究協力者	山本 修司  (Yamamoto Shuji)		
研究協力者	本澤 有介  (Honzawa Yusuke)		
研究協力者	岡部 誠  (Okabe Nakoto)		
研究協力者	北本 博規  (Kitamoto Hiroki)		

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