

令和 2 年 4 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14998

研究課題名(和文)細胞内脂質代謝によるKupffer細胞機能制御におけるFABP7の役割の検討

研究課題名(英文) Investigation of the role of FABP7 in the regulation of Kupffer cell activation through the intracellular lipid metabolism

研究代表者

宮崎 啓史 (Miyazaki, Hirofumi)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90803867

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)：本研究では肝常在性マクロファージ(Kupffer細胞、KC)に強く発現し、細胞内脂質動態を制御する脂肪酸結合蛋白質FABP7がどのような分子メカニズムで細胞内代謝の調節に関わり、KCの炎症性・抗炎症性機能を制御しているのかを検討した。FABP7は、マクロファージの抗炎症性機能活性化制御およびミトコンドリア脂肪酸酸化機能への関与が示された。さらに、FABP7はIRF4やPPAR γ など脂質代謝関連分子の発現を制御する転写因子の発現調節に関わることが示された。以上から、FABP7は脂質代謝関連遺伝子の転写因子の発現制御を介して脂質代謝バランスを調節し、抗炎症性活性化を制御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

肝の常在性マクロファージ(Kupffer細胞)に高発現を示す脂肪酸結合蛋白質FABP7は、細胞内脂質代謝バランスを調節し、抗炎症性機能活性化制御に関与することが示された。マクロファージの抗炎症機能は線維化反応を促進する作用が知られており、本研究結果により、Kupffer細胞の脂質代謝バランスによる抗炎症性活性化機能の制御は、非アルコール性脂肪性肝炎NASHや肝線維化などにおける新たな病態メカニズムの解明や治療法開発への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Fatty acid binding protein 7(FABP7) is highly expressed in hepatic resident macrophages (Kupffer cells, KC). In this study, we investigated the molecular mechanism by which FABP7 is involved in the regulation of intracellular metabolism and by which FABP7 regulates the inflammatory and/or anti-inflammatory functions of KC. FABP7 was shown to be involved in the regulation of macrophage anti-inflammatory activation and mitochondrial fatty acid oxidation. Furthermore, FABP7 has been shown to be involved in the regulation of expression of transcription factors that regulate the expression of lipid-metabolism related molecules such as IRF4 and PPAR γ . From the above, it was suggested that FABP7 may regulate the intracellular lipid metabolism through the regulation of the expression of transcription factors such as IRF4 and PPAR γ , and play a role in the regulation of anti-inflammatory activation.

研究分野：解剖

キーワード：マクロファージ Kupffer細胞 脂肪酸結合蛋白質

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マクロファージは様々な器官に存在し、異物の貪食やサイトカイン産生を主な機能として、生体防御の中心的役割を担う。マクロファージの活性化状態として炎症性機能を示す M1 および抗炎症性機能を示す M2 への極性化が、免疫応答のみならず組織修復や線維化反応などに深く関与し、その極性化制御メカニズムの解明について国内外で精力的に研究が進められている。

肝の常在性マクロファージである Kupffer 細胞(KC)は、生体のマクロファージの約 80~90% を占め、肝の免疫反応の中心的役割を担うが、脂肪の食事摂取や血液環境によって大きくその活性を変え、脂肪性肝疾患 (NASH: non-alcoholic steato-hepatitis) や肝線維化などの疾患発症の病態メカニズムにおいても重要な役割を果たす。それゆえに、KC の活性化制御機構の解明は非常に高い注目を集めるが、他のマクロファージと異なり門脈血に直接接している KC 独自の特性や単離の難しさから、未だその活性化メカニズムについては不明な点が多い。

申請者は KC に強い発現を示し、細胞内脂質動態を制御する分子である脂肪酸結合蛋白質 FABP7 に注目し機能解析を行ってきた。これまで、FABP7 は KC の貪食能の機能を制御することや肝組織の炎症反応、肝線維化反応を促進させることを報告している。しかしながら、FABP7 による KC の活性化制御機構は不明である。

2. 研究の目的

本研究では、FABP7 がどのような分子メカニズムで細胞内脂質代謝の調節に関わり、KC の M1/M2 極性化を制御しているのかを明らかにする。具体的には、FABP7 の遺伝子欠損によって影響を及ぼされるエネルギー代謝や細胞内脂質代謝調節に関わる分子を同定し、KC の活性化制御機構との相互作用の解明を目指す。本研究を通して、FABP7 による KC の機能調節機構の解明により、様々な肝疾患に対する新たな病態メカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

単離 KC は解析に十分な細胞数が得られない為、野生型マウスおよび FABP7 遺伝子欠損マウスから骨髓細胞を取出し、マクロファージの分化因子である M-CSF 存在下で培養し、骨髓由来マクロファージ BMDM を解析対象とした。BMDM に対し、LPS により炎症性機能 M1 極性化を、IL-4 により抗炎症性機能 M2 極性化を誘導した。mRNA 発現を定量的 PCR、タンパク質発現を Western blot 法により測定した。また、ミトコンドリアの呼吸における酸素消費量および解糖系速度をフラックスアナライザーにより測定した。さらに、RI 標識脂肪酸を用いて脂肪酸酸化の活性を測定した。

4. 研究成果

LPS 刺激後、M1 極性化マーカーである iNOS や IL18 の mRNA 発現を検討したところ、WT-BMDM と KO-BMDM との両群間に有意な差は無かった。一方で、IL-4 刺激後、M2 極性化マーカーである Arg1, Mrc1 の発現が WT-BMDM と比較して KO-BMDM で有意に低下していた (図 1)。このことから、FABP7 はマクロファージの M2 極性化に関与することが示された。

マクロファージは M2 極性化における細胞内代謝の脂肪酸酸化が増加する。次にマクロファージの細胞内代謝をフラックスアナライザーにより測定したところ、脂肪酸酸化が KO-BMDM で低下していた。一方で解糖系が増加傾向を示したことから、KO-BMDM は代償的作用が働いている可能性が示唆された。また、脂肪酸の細胞内取り込みに重要な分子である CD36 の発現が KO-BMDM で低下していた。一方、脂肪酸の細胞質からミトコンドリアへの移送を制御する CPT1、CPT2 の mRNA には差がなかった。以上のことから KO-BMDM における CD36 の発現低下による脂肪酸酸化の低下が示唆される。

IL-4 刺激による脂肪酸酸化の亢進は STAT6 や IRF4、PPAR γ 、LXR α などの転写因子の活性化による脂質代謝関連遺伝子の転写が亢進すると考えられる。また、PPAR γ は CD36 の主要な転写因子の 1 つである。IRF4、PPAR γ 、LXR α の発現を比較したところ、WT-BMDM と比較して KO-BMDM で有意に低下していた (図 2)。STAT6 はリン酸化し転写因子として作用するが、STAT6 のリン酸化レベルには WT-BMDM と KO-BMDM との両群間に差は認められなかった。また、IRF4 の発現制御は IL-4 刺激後

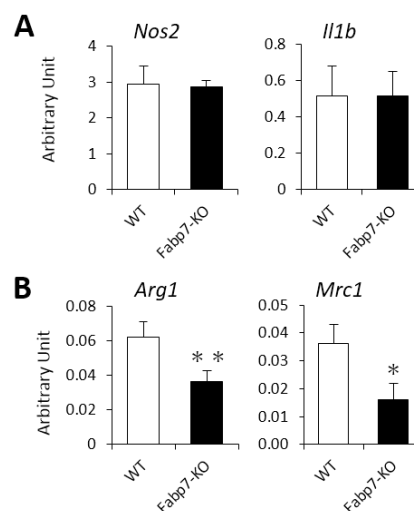


図1 M1/M2極性化マーカー遺伝子の発現
A LPS 刺激 (M1 極性化誘導) 後の WT-BMDM および Fabp7-KO BMDM の Nos2, Il-1b mRNA 発現
B IL-4 刺激 (M2 極性化誘導) 後の WT-BMDM および Fabp7-KO BMDM の Arg1, Mrc1 mRNA 発現

の STAT6、および IL-4 のセカンドメッセンジャーである Akt のリン酸化による活性化により調節を受ける。Akt リン酸化レベルを検討したところ WT-BMDM と KO-BMDM との両群間に有意な差は認められなかった。このことから FABP7 は IRF4、PPAR γ 、LXR α などの転写因子の発現制御を介した脂質代謝機能に関与する可能性が示唆された。

以上のことから、FABP7 は IRF4 や PPAR γ 、LXR α などの脂質代謝関連因子を制御する転写因子の発現調節に関与することが示された。これらの転写因子の発現調節によりマクロファージの脂質代謝バランスを制御し、抗炎症機能活性化調節に関わる可能性が示された。現在、高脂肪高コレステロール食摂取による非アルコール性脂肪性肝炎・肝線維化モデルにおける、KC の脂質代謝による機能活性化制御機構と病態メカニズムとの関連を検討しており、生体レベルでの KC の脂質代謝制御機構の意義の解明を目指している。

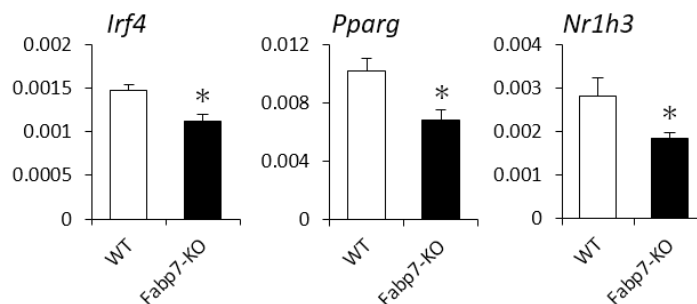


図2 転写因子 (IRF4, PPAR γ , LXR α) の遺伝子発現
IL-4 刺激後の転写因子 *Irf4*, *Pparg*, *Nr1h3* (LXR α) mRNA 発現

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮崎啓史, 小林周平, 香川慶輝, 大和田祐二
2. 発表標題 FABP7は細胞内脂質代謝制御を介してマクロファージの抗炎症性機能に関わる
3. 学会等名 第125回日本解剖学会全国学術集会
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----