

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21594

研究課題名（和文）代謝微小環境によるマクロファージ制御と慢性炎症機序の解明

研究課題名（英文）Immunometabolic regulation of macrophages in chronic inflammation

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）：慢性炎症は生活習慣病とがんに共通する基盤病態である。マクロファージの機能が適切に制御されないことが、慢性炎症をもたらす重要な機序の一つと考えられる。マクロファージの細胞代謝と機能の関連について解析し、マクロファージを取り巻く代謝環境の変化がマクロファージの機能を大きく変えることを見いだした。また、細胞代謝と機能を接続する新たな非コードRNA、lncFAOを同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マクロファージは炎症の慢性化や、慢性炎症による臓器障害で重要な役割を果たすことから、マクロファージの機能制御機構の解明は、新たな診断・治療標的の同定につながる可能性が高い。本研究では組織における代謝環境、マクロファージの細胞代謝、遺伝子発現制御とが密接に関連していることを見いだした。この成果は、糖尿病や肥満といった代謝疾患における心血管疾患やがんの発症機序の解明に発展することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：Chronic inflammation is a common underlying pathology of both cardiometabolic disease and cancer. Dysregulation of macrophage function is thought to be one of the important mechanisms that lead to chronic inflammation. We analyzed the relationship between cell metabolism and function of macrophages and found that changes in the metabolic environment surrounding macrophages significantly alter macrophage function. We also identified a new non-coding RNA, lncFAO, that acts as an immunometabolic regulator of macrophages.

研究分野：循環器内科学

キーワード：マクロファージ 免疫代謝 慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症は生活習慣病と癌に共通する基盤病態である。肥満や糖尿病は慢性炎症を惹起することによって心血管疾患や癌を促進する。マクロファージは極めて多彩な機能をもって炎症の開始から収束、慢性化や線維化までの全てのプロセスで主要な働きをする。マクロファージ機能が適切に炎症から収束、修復へと向かうことは、炎症の消退と恒常性の回復に必須であり、その異常は慢性炎症をもたらすと考えられる(図1)。一方で、組織に常在するマクロファージは、各組織に固有な、恒常性維持に必須の機能を持つ。

申請者はこれまでに心血管代謝疾患や慢性腎臓病におけるマクロファージの多様な機能を明らかにしてきた(Nat Med 2009, 2017; Nat Commun 2019; Cell Metab 2012; JCI 2011等)。最近、細胞内代謝の変換(代謝リプログラミング)がマクロファージの機能発現に重要であることが分かってきた(図2)。

2. 研究の目的

本研究は代謝とマクロファージの機能制御との関連に着目し、特に、代謝微小環境がマクロファージを指令・教育し、恒常性を維持すると共に、炎症の慢性化や癌増殖を推進する機序を明らかにすることを目的とする。特に代謝微小環境-細胞代謝-エピゲノムの連動機構を解明する。

3. 研究の方法

代謝微小環境によるマクロファージ活性制御の解析

代謝微小環境がどのようにマクロファージ活性を制御し、慢性炎症や癌増殖に寄与させるかを明らかにする。培養マクロファージと癌細胞等との共培養系を用い、トランスクリプトームの変化から機能を解析する。また、マクロファージ機能に介入して、その作用を検討する。さらに、微小環境からのインストラクションを担う分子を同定し、その作用経路を検討することにより、代謝微小環境がどのようにマクロファージを制御するのか、そのシグナルメカニズムを明らかにする。

代謝微小環境によるエピゲノム教育機構の解明

代謝リモデリングと連動したエピゲノム改編を ATAC-seq によるオープンクロマチン領域の解析や ChIP-seq によるヒストン修飾解析によって解析する。エピゲノム改編の特徴を同定すると共に、エピゲノム改編を制御する転写因子やコレギュレータを探索・同定する。

代謝と連動したエピゲノム制御機構による炎症制御機構の解明

上記の解析により明らかにした代謝とエピゲノムを連動する機構によりどのように炎症応答が制御されるかを明らかにする。

4. 研究成果

代謝微小環境によるマクロファージ活性制御の解析

癌細胞とマクロファージの共培養実験から、この両者で代謝的な共存関係が確立されることを見いだした。さらに、その共存関係が両者の遺伝子発現や機能を大きく改変することを見いだした(図3)。特にマクロファージ側の機能改変のメカニズム解析を進め、あるメタボライトが

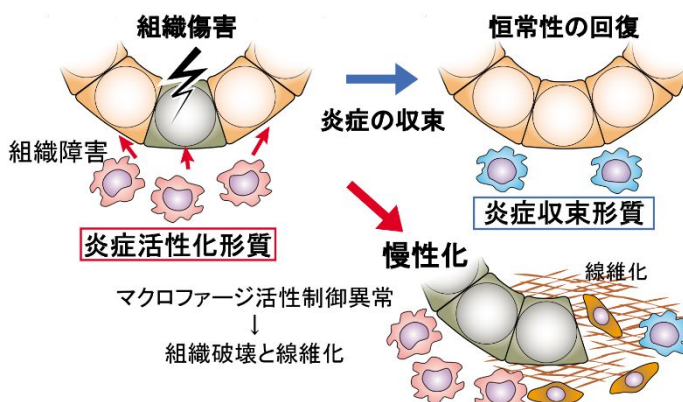


図1 腎傷害に始まる炎症はマクロファージの炎症活性化から収束形質への移行によって収束し、恒常性が回復される。活性制御の異常は炎症の慢性化と組織破壊をもたらす。



図2 細胞内代謝の変換(代謝リプログラミング)がマクロファージの多彩な機能を制御する

マクロファージにおける回分子の発現に必須であることを見いだした。

代謝微小環境によるエピゲノム教育機構の解明

項での共培養環境で代謝的に共存しているマクロファージ、また、肥満マウスのマクロファージにおけるエピゲノム解析を行った。RNA-seq 等の結果から、エピジェネティック制御に重要な転写ネットワークの候補を同定した。

代謝と連動したエピゲノム制御機構による炎症制御機構の解明

微小環境の相違はマクロファージの細胞代謝とも連動する可能性が高いことから、細胞代謝と連動してマクロファージ機能を制御するエピジェネティック制御機構の探索同定を進めた。まずマクロファージの活性化のモデルとして LPS 刺激を行い、その後の細胞代謝について検討したところ、図 4 のように、炎症活性化と一致する解糖系の活性化と、その後の炎症収束期での解糖系から酸化リン酸化への細胞代謝の遷移が生じることを見いだした。特に LPS 応答の後期、即ち炎症の収束期に発現が誘導され、炎症収束機能に寄与するエピジェネティック制御機構の探索を行った。RNA-seq の結果から、炎症収束期に発現が増強する lncRNA を探索し、新規 lncRNA として *lncFAO* を同定した。*lncFAO* は骨髄由来マクロファージ(BMDMs)の定常状態でも低レベルで発現が見られるが、LPS 刺激でいったん抑制され、8 時間後から発現誘導され、その発現は 48 時間後にも維持される。*lncFAO* は NF- κ B の結合と共にプロモーターやエンハンサー活性化のヒストン修飾が抑制されることから、NF- κ B により発現抑制される遺伝子と推測された(図 5)。

lncFAO の欠損は、BMDMs の炎症遺伝子発現を亢進・遷延化し、マウスエンドトキシンショックモデルでは、死亡率の上昇と炎症亢進を示す。*lncFAO* は核より細胞質やミトコンドリアに局在する。*lncFAO* は長鎖脂肪酸の β 酸化を触媒するミトコンドリア三頭酵素の HADHB サブユニットに結合し、酵素活性を増強する。*lncFAO* の欠損は LPS 刺激後にミトコンドリア HADHB 量も低下させることから、HADHB のミトコンドリアへの局在や安定化にも寄与している可能性がある。

マクロファージでは LPS 刺激によりいったん解糖系が主体となるが、その後の脂肪酸酸化の再活性化は炎症収束に重要と考えられる(図 4)。また、組織に存在するマクロファージにおいても脂肪酸酸化優位の代謝は、炎症の収束や組織修復に関わるマクロファージに特徴的であると考えられている。*lncFAO* の欠損は、皮膚損傷モデルで、炎症の遷延と、Ly6C^{hi} 炎症性マクロファージから、Ly6C^{lo} 修復性マクロファージへの移行を阻害した。また、*lncFAO* の発現は、心筋

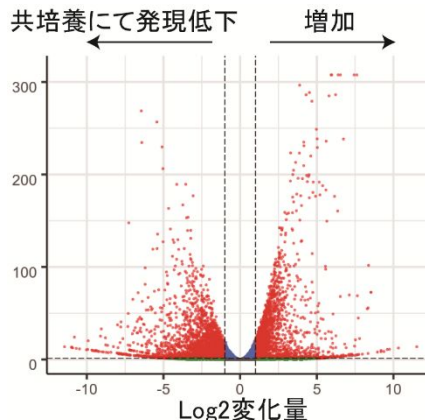


図3 癌細胞との共培養はマクロファージトランスクリプトームを改編する

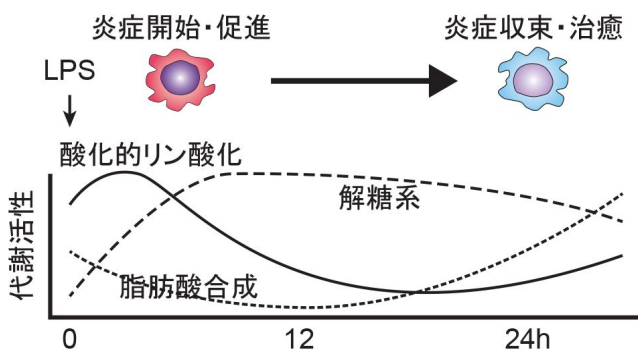


図4 LPS 刺激は初期に炎症活性化型、後期に炎症収束型の形質を誘導する。この時細胞代謝の自律的な変動が生じる。

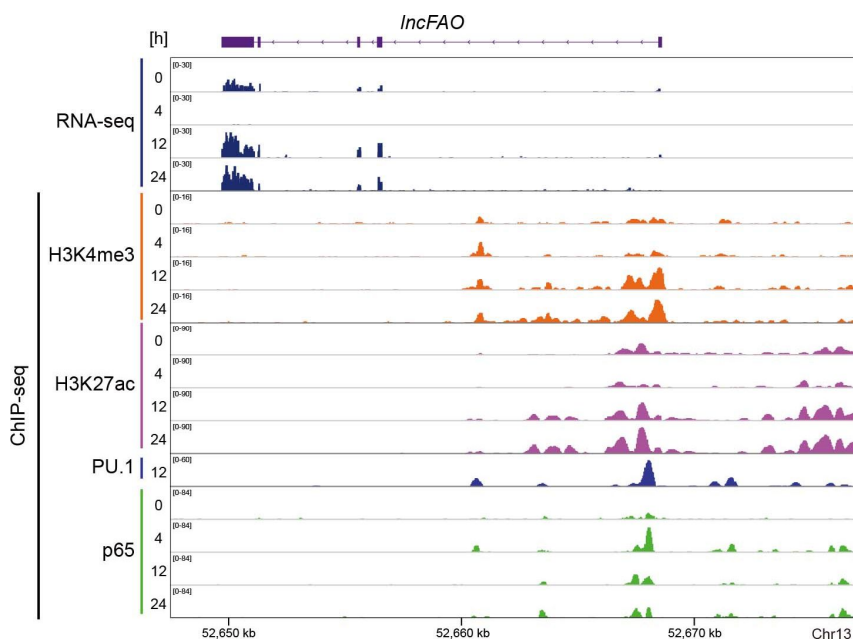


図5 *lncFAO* 遺伝子座の RNA-seq 及び ChIP-seq

梗塞後に出現する炎症収束から修復に寄与すると考えられるマクロファージサブpopulationに認められる。以上より、*IncFAO* は急性炎症から収束に向かう時に発現し、マクロファージの細胞代謝を脂肪酸酸化へと向かわせ、収束機能をもたらすようなスイッチとして機能したり、組織修復に働くマクロファージのエネルギー代謝を維持するような機能を持つことが考えられた (図6)。

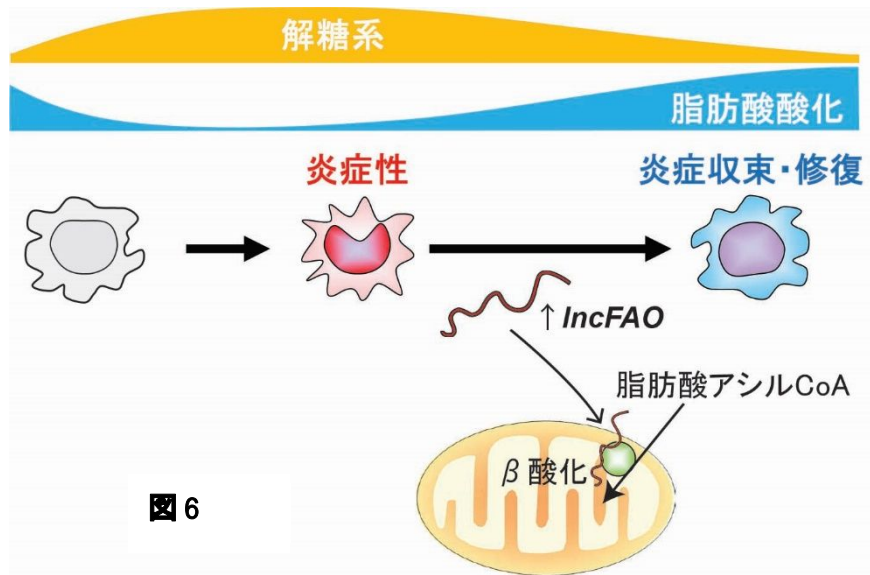


図6

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 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fujiu Katsuhito, Manabe Ichiro	4. 巻 34
2. 論文標題 Nerve-macrophage interactions in cardiovascular disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 81～95
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxab036	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 Sugita Junichi, Fujiu Katsuhito, Nakayama Yukiteru, Matsubara Takumi, Matsuda Jun, Oshima Tsukasa, Liu Yuxiang, Maru Yujin, Hasumi Eriko, Kojima Toshiya, Seno Hiroshi, Asano Keisuke, Ishijima Ayumu, Tomii Naoki, Yamazaki Masatoshi, Kudo Fujimi, Sakuma Ichiro, Nagai Ryoza, Manabe Ichiro, Komuro Issei	4. 巻 12
2. 論文標題 Cardiac macrophages prevent sudden death during heart stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1910
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-22178-0	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 Liu Lin, Koike Hiroyuki, Ono Takehito, Hayashi Shinichiro, Kudo Fujimi, Kaneda Atsushi, Kagechika Hiroyuki, Manabe Ichiro, Nakashima Tomoki, Oishi Yumiko	4. 巻 118
2. 論文標題 Identification of a KLF5-dependent program and drug development for skeletal muscle atrophy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2102895118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2102895118	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 Nakayama Yukiteru, Fujiu Katsuhito, Yuki Ryuzaburo, Oishi Yumiko, Morioka Masaki Suimye, Isagawa Takayuki, Matsuda Jun, Oshima Tsukasa, Matsubara Takumi, Sugita Junichi, Kudo Fujimi, Kaneda Atsushi, Endo Yusuke, Nakayama Toshinori, Nagai Ryoza, Komuro Issei, Manabe Ichiro	4. 巻 117
2. 論文標題 A long noncoding RNA regulates inflammation resolution by mouse macrophages through fatty acid oxidation activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 14365～14375
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2005924117	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15件（うち招待講演 14件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 循環・神経・免疫系の連携による恒常性の維持と破綻
3. 学会等名 第43回日本血栓止血学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Neuro-Immune-Metabolic Regulation of Cardiac Homeostasis and Disease
3. 学会等名 上原国際シンポジウム2021（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 細胞多様性と心血管疾患
3. 学会等名 第39回日本内分泌学会 内分泌代謝学サマーセミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Immunometabolic control in macrophages
3. 学会等名 The 10th International Congress on Lipid & Atherosclerosis（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 心不全における造血 - マクロファージコンティニューム
3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 循環・代謝・神経・免疫系の連携による恒常性維持と心血管疾患
3. 学会等名 第53回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 心 脳 - 腎連関
3. 学会等名 第74回日本自律神経学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Immunometabolic Regulation of Macrophages in Cardiovascular Disease
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ichiro Manabe
2. 発表標題 Macrophage diversity in the organ crosstalk and multimorbidity
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 Macrophage diversity in cardiovascular homeostasis and multimorbidity
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 Macrophage diversity in age-associated cardiovascular disease
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞鍋一郎
2. 発表標題 Organ crosstalk and macrophage in cardiovascular homeostasis and multimorbidity
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Macrophages in the cardiovascular organ crosstalk and mulbimorbidity
3. 学会等名 International Society for Applied Cardiovascular Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Macrophages and organ crosstalk in homeostasis and multimorbidity
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会 合同大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Manabe I
2. 発表標題 Functional diversity and modulation of macrophaes in organ crosstalk and cardiovascular disease.
3. 学会等名 International Vascular Biology Meeting 2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://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
---------	---------