

令和 6 年 5 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08526

研究課題名（和文）微小代謝環境に着目した慢性炎症の分子機構解明

研究課題名（英文）Elucidation of molecular mechanisms of chronic inflammation focusing on the micrometabolic environment

研究代表者

田中 都（Tanaka, Miyako）

名古屋大学・環境医学研究所・講師

研究者番号：60622793

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）：微小代謝環境に着目した慢性炎症の分子機構の解明を目的として、1)マクロファージ貪食能、融合能の制御機構解明、2)肥満の脂肪組織におけるCLS形成と炎症波及効果の分子機構解明に取り組んだ。1)では、貪食マクロファージと非貪食マクロファージの遺伝子発現の検討や、加齢や病態など、様々なマウス由来のマクロファージの貪食能の評価を通して、多くの知見を得た。2)では、主に、マクロファージに発現する免疫シグナル伝達分子Xに着目して、Xが脂肪組織炎症に及ぼす影響を検討した。X欠損マウスでは、CLS（crown-like structure）の数が著減し、脂肪組織炎症・線維化の減弱が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マクロファージの死細胞貪食のメカニズムは古くから知られているが、主に、数時間の短い時間での評価であった。本研究において、貪食マクロファージを長期間観察することで、マクロファージの性質の変化を詳細に検討することができた。また、これまでに、様々な遺伝子改変マウス由来マクロファージの貪食能は評価されてきたが、病態モデル由来マクロファージの貪食能はほとんど評価されてこなかった。本研究では、マクロファージ貪食能の変化が加齢性変化や病態を惹起すると仮説を立て実施したユニークな研究となった。今後、因果関係を詳細に検討することで、マクロファージ貪食の意義がより明確になると想定される。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the molecular mechanisms of chronic inflammation focusing on the micrometabolic environment, we evaluated the phagocytic ability of macrophages from various mouse sources. Many findings were obtained by examining the gene expression of phagocytic and non-phagocytic macrophages and by evaluating the phagocytic capacity of macrophages from various types of mice, including aging and pathological conditions. In addition, focusing on the immune signaling molecule X expressed on macrophages, we investigated the effects of X on adipose tissue inflammation. X-deficient mice showed a marked decrease in the number of crown-like structures (CLS) and a reduction in adipose tissue inflammation and fibrosis.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：慢性炎症 マクロファージ 貪食

1. 研究開始当初の背景

種々の慢性疾患に共通の基盤病態として「慢性炎症」が注目されるようになって久しい。特に、メタボリックシンドロームの基盤病態である肥満の脂肪組織では、2003年に肥満の脂肪組織へのマクロファージ浸潤が報告されて以来(引用文献)、多彩な免疫細胞の関与と全身の糖脂質代謝における意義が明らかになった。肥満の脂肪組織では、代謝ストレスによって細胞死に陥った脂肪細胞を核としてマクロファージが集積し、貪食・処理するユニークな微小環境(CLS: crown-like structure)が形成される(引用文献)。CLSを構成するマクロファージは、炎症促進性の所謂 M1 マクロファージであり、ヒトにおいて、CLS の数は全身のインスリン抵抗性と正の相関を示すという。一方、免疫細胞の細胞内代謝に関する研究が進み、免疫代謝学(Immunometabolism)と称される新しい学問領域が注目されている。実際、CLS 内部の脂肪細胞にコレステロール結晶が形成され、周囲のマクロファージにコレステロールが蓄積する(引用文献)。しかしながら、脂肪組織局所の微小代謝環境が脂肪組織炎症や全身の代謝恒常性に及ぼす影響は不明であった。

申請者は、脂肪細胞とマクロファージの相互作用に注目して、脂肪組織炎症の分子機構の解明に取り組んできた。特にマクロファージの細胞膜上に発現する死細胞センサー Mincle (macrophage-inducible C-type lectin)に着目し、CLS における炎症慢性化機構を明らかにした(引用文献)。即ち、CLS を構成するマクロファージに選択的に発現する Mincle は、死細胞(脂肪細胞)に由来する内因性リガンドにより活性化すると、TGF- β や TIMP-1 など線維化促進分子の発現を誘導して脂肪組織の線維化を惹起する。この時、脂肪組織の脂肪蓄積能が障害されることにより、肝臓など異所性に脂肪が蓄積して全身のインスリン抵抗性が増悪する。このように、脂肪組織局所において死細胞を起点とする炎症慢性化機構が全身の代謝恒常性を制御することを見出した。

さらに申請者は、CLS における Mincle の役割の全貌解明に取り組んでいる。例えば、急性腎障害モデルにおいても CLS 様の微小環境が形成される。この時、壊死尿管に由来する脂溶性成分(コレステロールを含む)が Mincle を活性化し、炎症性サイトカインの産生と死細胞貪食の抑制に働くことで、慢性腎臓病に移行することを見出した(引用文献)。一方、免疫シグナル伝達分子 X を欠損するマウスに肥満を誘導すると、野生型マウスと同等の体重増加を示すが、脂肪組織の炎症や線維化が抑制されるなど Mincle 欠損マウスと同様の表現型を示す(未発表データ)。X は細胞膜上に局在し、Mincle と同様の細胞内シグナル伝達経路(Syk: spleen tyrosine kinase)を有する。しかしながら、Mincle と X の役割の違いや CLS における微小代謝環境の意義は全く分かっていない。

2. 研究の目的

本研究では、マクロファージ貪食能や貪食マクロファージの極性変化、X 欠損マウスの解析を通して、微小代謝環境の観点より CLS を改めて理解することで、メタボリックシンドロームの新たな病態メカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) マクロファージ貪食能と極性変化

貪食マクロファージは抗炎症サイトカインを産生することが知られているが、貪食直後は、むしろ炎症性サイトカインを産生する可能性を見出している(未発表データ)。貪食マクロファージの細胞内代謝変化をフラックスアナライザーで経時的に計測し、貪食と極性変化の詳細を明らかにする。マクロファージは、IL-4 刺激により Syk を介して融合するため(引用文献)、貪食シグナルと融合シグナルにクロストークがあると想定している。貪食マクロファージと融合マクロファージのマイクロアレイ解析より、融合シグナルの鍵となる転写因子や遺伝子を同定する。同定した分子をマクロファージに遺伝子導入し、貪食や融合に及ぼす影響を検討する。遺伝子改変マウスを作製し、肥満における脂肪組織炎症に及ぼす影響を検討する。

(2) 肥満の脂肪組織における CLS 形成と炎症波及効果の分子機構解明

既に、食事誘導性肥満 X 欠損マウスの脂肪組織では、CLS 数が減少し、脂肪組織炎症が減弱することを予備的に認めている。そこで、骨髄移植法により骨髄細胞における X が脂肪組織炎症に及ぼす影響を検討する。X はアダプター分子であり、様々な受容体と会合する。肥満の脂肪組織マクロファージのマイクロアレイ解析を行い、X と会合する受容体を同定する。

4. 研究成果

(1) マクロファージ貪食能と極性変化

アポトーシス細胞を用いた死細胞貪食実験を行い、貪食マクロファージと非貪食マクロファージの遺伝子発現変化を検討したところ、貪食マクロファージは経時的に極性が変化する可能性が示唆された。即ち、貪食直後は炎症性の形質を呈し、経時的に抗炎症性の形質を獲得する可能性が示唆された。マクロファージ貪食過程についてより詳細に検討する目的で、死細胞添加後、

数時間の評価のみならず、経時的に食食過程を評価する系の立ち上げを試みた。その結果、数時間後で食食マクロファージの割合が30~40%のところ、1日後には80%近くなり、2日後、3日後には減少に転じることが分かった。また、使用するマクロファージを無刺激で腹腔内より採取したマクロファージとチオグリコレート刺激をした腹腔内マクロファージでは、食食スピードなどが全く異なることが分かった。さらに、加齢マウス由来マクロファージや1型糖尿病マウス由来マクロファージの食食能を検討した。概念的には、加齢や病態で食食能が低下すると考えられているが、実際の評価はほとんどなされていない。本研究において、加齢マウス由来マクロファージや1型糖尿病マウス由来マクロファージは、対照マクロファージに比較して、食食能が低下することを見出した。現在、RNA-sequence解析を通して詳細を検討している。

(2) 肥満の脂肪組織におけるCLS形成と炎症波及効果の分子機構解明

マクロファージに発現する免疫シグナル伝達分子Xに着目して、Xが脂肪組織炎症・線維化に及ぼす影響を検討した。骨髄移植法にて、骨髄細胞特異的X欠損マウスを作成し、高脂肪食飼育により肥満を誘導したところ、対照マウスに比較して、骨髄細胞特異的X欠損マウスでは、CLS数が著減し、脂肪組織炎症・線維化が減弱した。一方で、脂肪組織間質細胞をフローサイトメーターで解析すると、間質細胞内には野生型マウスと同レベルの数のマクロファージが存在することが明らかになった。脂肪組織マクロファージを単離し、遺伝子発現を検討したところ、X欠損マクロファージは、野生型マクロファージと比較して、抗炎症性形質を呈することが分かった。一方、骨髄細胞から分化させたマクロファージや腹腔内マクロファージは、脂肪組織マクロファージのような大きな変化は認められなかったため、脂肪組織局所での細胞間相互作用などにより、抗炎症性形質を獲得する可能性が考えられた。

<引用文献>

Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 112(12): 1796-808, 2003.

Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, Wang S, Fortier M, Greenberg AS, Obin MS. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res.* 46(11): 2347-2355, 2005.

Giordano A, Murano I, Mondini E, Perugini J, Smorlesi A, Severi I, Barazzoni R, Scherer PE, Cinti S. Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *J Lipid Res.* 54(9): 2423-2436, 2013.

Tanaka M, Ikeda K, Suganami T, Komiya C, Ochi K, Shirakawa I, Hamaguchi M, Nishimura S, Manabe I, Matsuda T, Kimura K, Inoue H, Inagaki Y, Aoe S, Yamasaki S, Ogawa Y. Macrophage-inducible C-type lectin underlies obesity-induced adipose tissue fibrosis. *Nat Commun.* 5: 4982. 2014.

Ichioka M, Suganami T, Tsuda N, Shirakawa I, Hirata Y, Satoh-Asahara N, Shimoda Y, Tanaka M, Kim-Saijo M, Miyamoto Y, Kamei Y, Sata M, Ogawa Y. Increased expression of macrophage-inducible C-type lectin in adipose tissue of obese mice and humans. *Diabetes.* 60(3): 819-826, 2011.

Tanaka M, Saka-Tanaka M, Ochi K, Fujieda K, Sugiura Y, Miyamoto T, Kohda H, Ito A, Miyazawa T, Matsumoto A, Aoe S, Miyamoto Y, Tsuboi N, Maruyama S, Suematsu M, Yamasaki S, Ogawa Y, Suganami T. C-type lectin Mincle mediates cell death-triggered inflammation in acute kidney injury. *J Exp Med.* 217(11): e20192230, 2020.

Helming L, Tomasello E, Kyriakides TR, Martinez FO, Takai T, Gordon S, Vivier E. Essential role of DAP12 signaling in macrophage programming into a fusion-competent state. *Sci Signal.* 1(43): ra11, 2008.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Oya Manami, Miyasaka Yoshiki, Nakamura Yoshiko, Tanaka Miyako, Suganami Takayoshi, Mashimo Tomoji, Nakamura Kazuhiro	4. 巻 36
2. 論文標題 Age-related ciliopathy: Obesogenic shortening of melanocortin-4 receptor-bearing neuronal primary cilia	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cell Metabolism	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmet.2024.02.010	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 Itoh Michiko, Tamura Atsushi, Kanai Sayaka, Tanaka Miyako, Kanamori Yohei, Shirakawa Ibuki, Ito Ayaka, Oka Yasuyoshi, Hidaka Isao, Takami Taro, Honda Yasushi, Maeda Mitsuyo, Saito Yasuyuki, Murata Yoji, Matozaki Takashi, Nakajima Atsushi, Kataoka Yosky, Ogi Tomoo, Ogawa Yoshihiro, Suganami Takayoshi	4. 巻 220
2. 論文標題 Lysosomal cholesterol overload in macrophages promotes liver fibrosis in a mouse model of NASH	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 e20220681
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20220681	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 Shinoda Yoshiki, Tatsukawa Hideki, Yonaga Atsushi, Wakita Ryosuke, Takeuchi Taishu, Tsuji Tokuji, Tanaka Miyako, Suganami Takayoshi, Hitomi Kiyotaka	4. 巻 14
2. 論文標題 Tissue transglutaminase exacerbates renal fibrosis via alternative activation of monocyte-derived macrophages	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-023-05622-5	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 Inoue Takayuki, Fu Bin, Nishio Miwako, Tanaka Miyako, Kato Hisashi, Tanaka Masashi, Itoh Michiko, Yamakage Hajime, Ochi Kozue, Ito Ayaka, Shiraki Yukihiro, Saito Satoshi, Ihara Masafumi, Nishimura Hideo, Kawamoto Atsuhiko, Inoue Shian, Saeki Kumiko, Enomoto Atsushi, Suganami Takayoshi, Satoh-Asahara Noriko	4. 巻 15
2. 論文標題 Novel Therapeutic Potentials of Taxifolin for Obesity-Induced Hepatic Steatosis, Fibrogenesis, and Tumorigenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 350 ~ 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu15020350	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 Ohue-Kitano Ryuji, Nonaka Hazuki, Nishida Akari, Masujima Yuki, Takahashi Daisuke, Ikeda Takako, Uwamizu Akiharu, Tanaka Miyako, Kohjima Motoyuki, Igarashi Miki, Katoh Hironori, Tanaka Tomohiro, Inoue Asuka, Suganami Takayoshi, Hase Koji, Ogawa Yoshihiro, Aoki Junken, Kimura Ikuo	4. 巻 8
2. 論文標題 Medium-chain fatty acids suppress lipotoxicity-induced hepatic fibrosis via the immunomodulating receptor GPR84	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.165469	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 Yoshioka Naoki, Tanaka Miyako, Ochi Kozue, Watanabe Akiko, Ono Kenji, Sawada Makoto, Ogi Tomoo, Itoh Michiko, Ito Ayaka, Shiraki Yukihiro, Enomoto Atsushi, Ishigami Masatoshi, Fujishiro Mitsuhiro, Ogawa Yoshihiro, Suganami Takayoshi	4. 巻 140
2. 論文標題 The sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor Tofogliflozin prevents the progression of nonalcoholic steatohepatitis-associated liver tumors in a novel murine model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedicine & Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 111738 ~ 111738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2021.111738	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 Kurita Kento, Ohta Hiroya, Shirakawa Ibuki, Tanaka Miyako, Kitaura Yasuyuki, Iwasaki Yorihiro, Matsuzaka Takashi, Shimano Hitoshi, Aoe Seiichiro, Arima Hiroshi, Ogawa Yoshihiro, Ito Ayaka, Suganami Takayoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Macrophages rely on extracellular serine to suppress aberrant cytokine production	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-90086-w	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 Kobayashi Azusa, Ito Ayaka, Shirakawa Ibuki, Tamura Atsushi, Tomono Susumu, Shindou Hideo, Hedde Per Niklas, Tanaka Miyako, Tsuboi Naotake, Ishimoto Takuji, Akashi-Takamura Sachiko, Maruyama Shoichi, Suganami Takayoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Dietary Supplementation With Eicosapentaenoic Acid Inhibits Plasma Cell Differentiation and Attenuates Lupus Autoimmunity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.650856	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 Chen Siyuan, Miyazaki Takuya, Itoh Michiko, Matsumoto Hiroko, Moro-oka Yuki, Tanaka Miyako, Miyahara Yuji, Suganami Takayoshi, Matsumoto Akira	4. 巻 8
2. 論文標題 A Porous Reservoir-Backed Boronate Gel Microneedle for Efficient Skin Penetration and Sustained Glucose-Responsive Insulin Delivery	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gels	6. 最初と最後の頁 74 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/gels8020074	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 -

[学会発表] 計14件 (うち招待講演 13件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田中 都, 菅波孝祥
2. 発表標題 メタボリックシンドローム発症機序の新たな展開: 脂肪組織と代謝関連組織の連関と炎症、貪食、細胞死による調節機構
3. 学会等名 第101回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Miyako Tanaka, Takayoshi Suganami
2. 発表標題 Clearance of dead cells regulates resolution of inflammation.
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中 都, 越智 梢, 吉岡直輝, 才田恵美, 菅波孝祥
2. 発表標題 免疫シグナル伝達分子が脂肪組織炎症に及ぼす影響
3. 学会等名 第44回日本肥満学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中 都, 菅波孝祥
2. 発表標題 脂肪組織間質細胞の多様性と疾患における意義
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中 都, 菅波孝祥
2. 発表標題 細胞死による炎症慢性化機構の最前線
3. 学会等名 第96回日本内分泌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Miyako Tanaka, Takayoshi Suganami
2. 発表標題 Cell death-induced chronic inflammation and metabolic changes in macrophage
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中 都, 菅波孝祥
2. 発表標題 細胞死とマクロファージがもたらす慢性炎症の病態メカニズム
3. 学会等名 第43回日本肥満学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyako Tanaka, Takayoshi Suganami
2. 発表標題 Clearance of dead cells and altered cellular metabolism in macrophages as a novel molecular mechanism of chronic inflammation
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中 都, 菅波孝祥
2. 発表標題 細胞死を起点とした炎症慢性化機構とメタボリックシンドロームにおける意義
3. 学会等名 第96回 日本糖尿病学会中部地方会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中 都, 菅波孝祥
2. 発表標題 Clearance of dead cells and altered cellular metabolism in macrophages as a novel molecular mechanism of chronic inflammation
3. 学会等名 第26回日本心血管内分泌代謝学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中 都, 小川佳宏, 菅波孝祥 .
2. 発表標題 細胞死を起点とした慢性炎症・生活習慣病のメカニズム
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 都, 小川佳宏, 菅波孝祥.
2. 発表標題 過栄養がもたらす細胞死と炎症, 線維化
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 都, 小川佳宏, 菅波孝祥.
2. 発表標題 慢性炎症から紐解く代謝性疾患の病態メカニズム
3. 学会等名 第78回日本栄養・食糧学会中部支部大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 都, 菅波孝祥.
2. 発表標題 細胞死を起点としたマクロファージの代謝変動と慢性炎症のメカニズム
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 菅波 孝祥, 田中 都, 伊藤 美智子	4. 発行年 2023年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 172
3. 書名 もっとよくわかる! 線維化と疾患	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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