

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11764

研究課題名(和文) マクロファージ極性をM2へと導く新規転写因子の機能解明と生活習慣病創薬への展開

研究課題名(英文) Elucidation of the function of novel transcription factor that lead to polarization of M2 macrophages and development of metabolic disease drug discovery

研究代表者

永島 まゆみ (Nagashimada, Mayumi)

金沢大学・保健学系・助教

研究者番号：30645510

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)：肥満による慢性炎症とインスリン抵抗性の形成において、浸潤するマクロファージ量だけでなくマクロファージ極性(炎症惹起性M1、抗炎症性M2)も重要である。しかしマクロファージの極性制御においては不明な点が多い。私たちは肥満の脂肪組織で転写因子HSF1の発現が減少することを見出している。本研究ではマクロファージで発現するHSF1のマクロファージの極性制御機構と肥満における炎症やインスリン抵抗性への関与について検証した。マクロファージで発現するHSF1は、肥満の脂肪組織に浸潤するマクロファージの量とマクロファージ極性に関与し、糖脂質代謝、インスリン抵抗性および炎症の形成に重要であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、転写因子であるHSF1がマクロファージの極性制御および肥満による慢性炎症やインスリン抵抗性の発症に関与することを明らかにし、HSF1が生活習慣病の元凶となる肥満と慢性炎症のリンクを断ち切る因子となりうる可能性を示した研究である。肥満による慢性炎症とインスリン抵抗性の発症に重要なマクロファージの極性という「質」を変化させるHSF1はインスリン抵抗性や生活習慣病に対する創薬、予防法につながる新規標的分子となりうることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has been known that not only macrophage infiltration but also macrophage polarization (M1: pro-inflammatory, M2: anti-inflammatory) is important in the obesity-associated inflammation and insulin resistance. However, the regulatory mechanism of macrophage polarization in obesity is unknown. We found that the heat shock factor HSF1 was reduced in obese adipose tissue. In this study, we examined at the role of HSF1 expressed on macrophages in the regulation of macrophage polarization, obesity-associated chronic inflammation and metabolic diseases. We have discovered that HSF1 expression in macrophages has been shown to be involved in the macrophages infiltrating obese adipose tissue and macrophages polarization and plays a crucial role in glucose and lipid metabolism, insulin resistance, and inflammation in obesity.

研究分野：代謝学

キーワード：肥満 慢性炎症 インスリン抵抗性 マクロファージ 転写因子

1. 研究開始当初の背景

肥満のマウスやヒトにおける脂肪組織や肝臓などの代謝臓器では、骨髄から単球・マクロファージを浸潤・集積させるケモカインの制御を受け、慢性的な低レベルの炎症が生じている (JCI, 2003)。肥満による慢性炎症は、インスリン抵抗性や生活習慣病(糖尿病、脂肪肝)を引き起こす元凶と考えられている。これまで申請者は、代謝臓器の慢性炎症は、マクロファージ浸潤の増加だけでなく、炎症惹起性 M1 の増加と抗炎症性 M2 の減少というマクロファージの質が変化する極性変化が深く関与することを明らかにしてきた(Diabetes 2012, 2016, Endocrinology 2021)。M1/M2 マクロファージは各々CD11c(M1)や CD206 (M2)等の表面抗原の違いで分類される。しかし、なぜ過栄養や肥満に伴い M1 マクロファージが増加し、M2 マクロファージが減少するのか、M1/M2 極性の調節機構については十分に明らかにされていない。その理由としてマクロファージ極性を転写レベルで直接的に制御するマスター分子が同定されていないからである。我々は肥満の脂肪組織において熱ショック転写因子 heat shock factor 1(HSF1)の発現が顕著に減少することを見出した。HSF1 は熱ショック等の細胞内ストレスにより活性化するが、近年、その発現や活性の異常が、がんや神経疾患等の疾患形成に関与することが報告されている(Nat Rev Mol Cell Biol. 2010)。また、HSF1 は単球からマクロファージの分化に関与することが報告されている(Leukemia.2014)。HSF1 は肥満におけるマクロファージの極性調節に作用し、炎症やインスリン抵抗性に関与する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、過栄養や肥満で発現が低下する HSF1 が、転写因子制御下でマクロファージ極性を調節し、慢性炎症を減弱し、インスリン抵抗性を改善させ、生活習慣病創薬の新規標的分子となる仮説を検証することである。モデルマウスを作製し HSF1 のインスリン抵抗性や生活習慣病に与えるインパクトについて解析し、HSF1 が慢性炎症を介したインスリン抵抗性の発症に重要なマクロファージの「質」を大きく変化させ、生活習慣病の治療に向けた新規標的分子となることを検証する。

3. 研究の方法

全身性の HSF1 欠損マウスは高脂肪食による体重増加を認めず(Cell Metab, 2011)、食餌性肥満によるマクロファージの動態やインスリン抵抗性における意義を明確化することは難しい。そこでマクロファージ特異的に HSF1 を欠損するコンディショナルノックアウトマウス(M-HSF1cKO)を作製する。このマウスに高脂肪食を 10 週間与え、食餌性肥満を誘導し、糖負荷試験による耐糖能の評価や、脂肪組織および肝臓におけるインスリン感受性、肝臓の脂肪蓄積など代謝表現型解析を行う。更に HSF1 による脂肪組織に浸潤するマクロファージの極性についてフローサイトメトリーを用いて検証する。

4. 研究成果

(1) 個体のインスリン感受性、糖脂質代謝における HSF1 のインパクトの解明

免疫染色により HSF1 は脂肪組織において、脂肪細胞の核、およびマクロファージで発現することを認めた(図1)。また、脂肪組織における HSF1 の遺伝子発現は、高脂肪食による食餌性肥満を誘導したマウスで減少し、肥満で発現が変動することが認められた。

マクロファージ特異的に HSF1 を欠損するコンディショナルノックアウトマウスを作製し (M-HSF1cK0) 10 週間高脂肪食を与え肥満を誘導した。食餌性肥満の M-HSF1cK0 マウスの体重推移および肝重量、脂肪重量はコントロール群と同等であり、マクロファージにおける HSF1 の欠損は、体重増加に影響を与えなかった。しかし、肥満の M-HSF1cK0 マウスはコントロール群に比し、耐糖能異常の改善、インスリン抵抗性の減弱を認めた。更に、脂肪組織において、炎症性サイトカインである TNF- α の遺伝子発現の低下およびマクロファージ浸潤が減少し、炎症の減弱を認めた。また、肝臓においては脂肪蓄積の抑制を認めた。

図1. HSF1はマクロファージで発現する

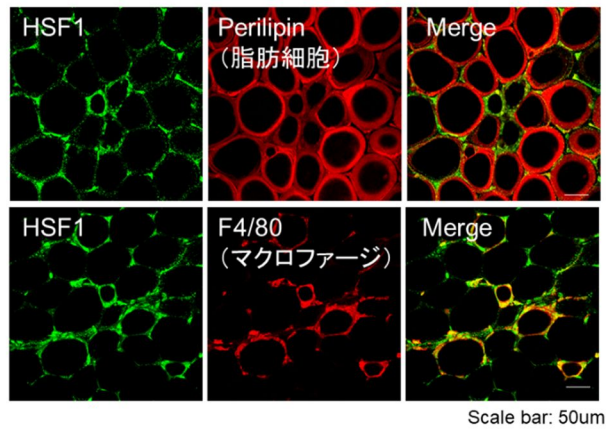
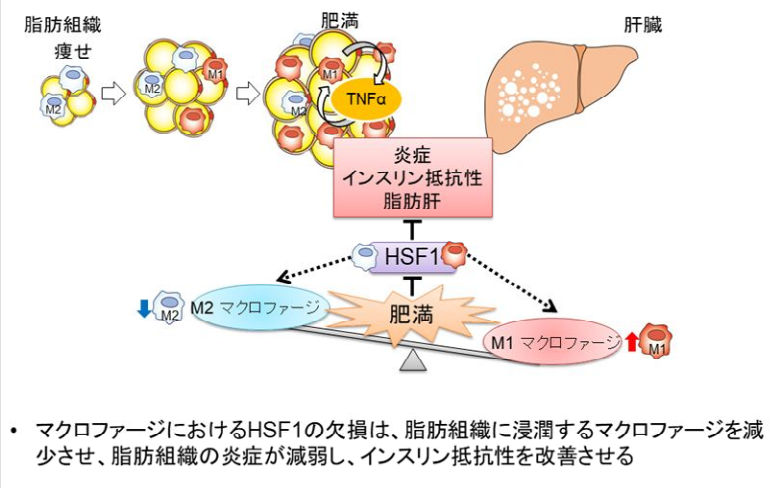


図2 マクロファージで発現するHSF1の肥満における炎症およびインスリン抵抗性に与えるインパクト



肥満の M-HSF1cK0 マウスの脂肪組織に浸潤するマクロファージ極性についてフローサイトメトリーによる

解析を行ったところ、M1 マクロファージが有意に減少していることが明らかとなった。マクロファージで発現する HSF1 は、肥満の脂肪組織に浸潤するマクロファージの量とマクロファージ極性に関与し、糖脂質代謝異常、インスリン抵抗性および炎症の形成に重要であることが明らかとなった (図 2)。

(2) 初代培養細胞を用いた転写因子 HSF1 の転写制御の解析

ルシフェラーゼアッセイによる解析から、HSF1 が M2 マクロファージの極性変化に関与する転写因子のプロモーター領域に結合することが示唆された。また、サイトカインを用いて骨髄細胞から選択的に M1 マクロファージへと分化させる誘導実験において、HSF1 欠損の骨髄細胞から誘導したマクロファージは増殖能の低下を認めた。今後、HSF1 の標的となる M1 マクロファージの極性調節機構に関与する遺伝子は存在するのか解析予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Xu Liang, Chen Yongping, Nagashimada Mayumi, Ni Yinhua, Zhuge Fen, Chen Guanliang, Li Haoran, Pan Tongtong, Yamashita Tatsuya, Mukaida Naofumi, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito, Nagata Naoto	4. 巻 125
2. 論文標題 C C chemokine ligand 3 deficiency ameliorates diet-induced steatohepatitis by regulating liver macrophage recruitment and M1/M2 status in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolism	6. 最初と最後の頁 154914 ~ 154914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.metabol.2021.154914	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 Nagashimada Mayumi, Honda Masao	4. 巻 22
2. 論文標題 Effect of Microbiome on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and the Role of Probiotics, Prebiotics, and Biogenics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8008 ~ 8008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22158008	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 Nagashimada Mayumi, Sawamoto Kazuki, Ni Yinhua, Kitade Hironori, Nagata Naoto, Xu Liang, Kobori Masuko, Mukaida Naofumi, Yamashita Tatsuya, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito	4. 巻 -
2. 論文標題 CX3CL1/CX3CR1 signalling deficiency exacerbates obesity-induced inflammation and insulin resistance in male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrinology	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) 10.1210/endo/bqab064	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 Sakai Yuri, Arie Hideyuki, Ni Yinhua, Zhuge Fen, Xu Liang, Chen Guanliang, Nagata Naoto, Suzuki Takuya, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito, Nagashimada Mayumi	4. 巻 247
2. 論文標題 Lactobacillus pentosus strain S-PT84 improves steatohepatitis by maintaining gut permeability	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Endocrinology	6. 最初と最後の頁 169 ~ 181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/JOE-20-0105	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 Sakai Yuriko, Chen Guanliang, Ni Yinhua, Zhuge Fen, Xu Liang, Nagata Naoto, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito, Nagashimada Mayumi	4. 巻 161
2. 論文標題 DPP-4 Inhibition with Anagliptin Reduces Lipotoxicity-Induced Insulin Resistance and Steatohepatitis in Male Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrinology	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) 10.1210/endo/bqaa139	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 Nishikawa Tomoki, Nagata Naoto, Shimakami Tetsuro, Shirakura Takashi, Matsui Chieko, Ni Yinhua, Zhuge Fen, Xu Liang, Chen Guanliang, Nagashimada Mayumi, Yamashita Taro, Sakai Yoshio, Yamashita Tatsuya, Mizukoshi Eishiro, Honda Masao, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito	4. 巻 10
2. 論文標題 Xanthine oxidase inhibition attenuates insulin resistance and diet-induced steatohepatitis in mice	5. 発行年 2020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/s41598-020-57784-3	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 Ni Yinhua, Zhuge Fen, Nagashimada Mayumi, Nagata Naoto, Xu Liang, Yamamoto Sayo, Fuke Nobuo, Ushida Yusuke, Suganuma Hiroyuki, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito	4. 巻 -
2. 論文標題 Lycopene prevents the progression of lipotoxicity-induced nonalcoholic steatohepatitis by decreasing oxidative stress in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Free Radical Biology and Medicine	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) 10.1016/j.freeradbiomed.2019.11.036	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 Xu Liang, Nagata Naoto, Chen Guanliang, Nagashimada Mayumi, Zhuge Fen, Ni Yinhua, Sakai Yuriko, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito	4. 巻 7
2. 論文標題 Empagliflozin reverses obesity and insulin resistance through fat browning and alternative macrophage activation in mice fed a high-fat diet	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Research & Care	6. 最初と最後の頁 e000783 ~ e000783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjdr-2019-000783	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 Guanliang, Ni Yinhua, Nagata Naoto, Zhuge Fen, Xu Liang, Nagashimada Mayumi, Yamamoto Sayo, Ushida Yusuke, Fuke Nobuo, Suganuma Hiroyuki, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito	4. 巻 63
2. 論文標題 Lycopene Alleviates Obesity Induced Inflammation and Insulin Resistance by Regulating M1/M2 Status of Macrophages	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Nutrition & Food Research	6. 最初と最後の頁 1900602 ~ 1900602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mnfr.201900602	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 Guanliang, Ni Yinhua, Nagata Naoto, Xu Liang, Zhuge Fen, Nagashimada Mayumi, Kaneko Shuichi, Ota Tsuguhito	4. 巻 99
2. 論文標題 Pirfenidone prevents and reverses hepatic insulin resistance and steatohepatitis by polarizing M2 macrophages	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 1335 ~ 1348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-019-0255-4	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3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 永島田まゆみ
2. 発表標題 マクロファージにおけるHSF1の欠損は肥満による慢性炎症を減弱しインスリン抵抗性を抑制する
3. 学会等名 第42 回日本肥満学会・第39 回日本肥満症治療学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永島田 まゆみ
2. 発表標題 CCL3/MIP-1 の欠損は、肥満による慢性炎症を減弱しインスリン抵抗性を抑制する
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永島田まゆみ, 倪銀華, 澤本一樹, 太田嗣人
2. 発表標題 肥満により減弱するFractalkine-CX3CR1シグナルの回復は、インスリン抵抗性を改善する
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
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
---------------------------	-----------------------	----

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